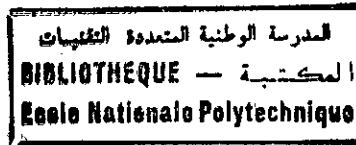


Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

Département : Génie de l'Environnement



THESE DE MAGISTER

Présentée par :

Monsieur Rachdi BOUSSAHEL
Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement

**RECHERCHE ET DOSAGE DES RESIDUS DE LA
DELTAMETHRINE DANS CERTAINS ALIMENTS**

Soutenue le 13 Novembre 1996 devant le jury :

Président
Examineurs

R. KERBACHI
N. BELHANECHÉ
S. BOUCHFAOUI
R. BOUSSENADJI

Rapporteur
Invités

K.M. MOUSSAOUI
M. SAOUTHII
B. NADJEM

Professeur
Maitre de Conférence
Chargé de Cours
Docteur d'Université
Maitre de Conférence
Professeur
Maitre de Conférence

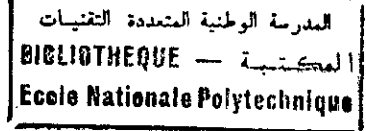
Ce travail est dédié à :

la mémoire de mon père, de mon oncle Ammar
et de tout nos martyrs,

ma femme et mon fils,

toute ma famille.

REMERCIEMENTS



Le présent travail a été effectué au Service de Toxicologie de l'Hopital Central de l'Armée (H.C.A.). Qu'il nous soit permis d'adresser l'expression de notre très vive gratitude au Colonel M.SAOUTHIL, Professeur de Toxicologie, pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son Service, pour la confiance qu'il nous a témoignée, pour l'autonomie qu'il nous a accordée et pour l'aide et les encouragements qu'il nous a prodigués.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à Madame M.K. MOUSSAOUI, Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Polytechnique (E.N.P.), pour avoir dirigé ce travail, pour le soin particulier qu'elle a pris à notre encadrement et pour les conseils qu'elle nous a prodigués. La confiance qu'elle nous a témoignée a été pour nous un honneur et une stimulation supplémentaire pour travailler sans relâche jusqu'à l'aboutissement de nos recherches.

Nous tenons à remercier Monsieur R.KERBACHI, Professeur à l'E.N.P., pour l'honneur qu'il nous a fait de présider le jury de cette thèse, ainsi que pour ses précieuses orientations.

Que Madame N.BEI.HANECHÉ, Maître de Conférence à l'E.N.P., qui a bien voulu faire partie du jury trouve ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Nous ne saurions trop remercier Madame S.BOUCHTAOUI, Chargé de Cours à l'E.N.P., d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous sommes très honoré de la présence dans notre jury de Monsieur R.BOUSSENADJI, Chef du Laboratoire Central du Centre Algérien du Contrôle de Qualité et de l'Emballage (C.A.C.Q.E). Ses compétences et sa disponibilité ont été pour nous un apport inestimable pour l'avancement de notre travail.

Nous tenons à exprimer notre éternelle reconnaissance à Monsieur B.NADJEM, Maître de Conférence à l'U.S.T.H.B., pour nous avoir initié à la Chromatographie Liquide de Haute Performance et d'avoir toujours répondu gentiment à nos nombreuses sollicitations.

Nous ne saurions trop remercier Mademoiselle J.ARRAR, Chargé de Cours à l'E.N.P., pour toute l'aide qu'elle nous a apportée sur le plan administratif et scientifique.

Nous avons été très sensible au soutien de Madame F.BENTAIAR, Maître de Conférence à l'U.S.T.H.B.. Qu'elle trouve dans ces quelques lignes l'expression de notre sincère amitié.

Nous ne saurions oublier Monsieur le Professeur A.Amamria et Mademoiselle Z.Sahraoui, qui nous ont orienté au début de notre travail. Qu'ils en soient sincèrement remerciés.

Nous remercions vivement Monsieur A.BENOUADAH, Chef du Laboratoire Central de l'Intendance, pour le soutien qu'il a apporté. Son expérience et sa compétence nous ont été très utiles.

Nous tenons à remercier Mademoiselle Z.OUALI pour l'aide précieuse qu'elle nous a apportée.

Nous remercions vivement nos élèves : A. BOUCHENAF, I. DJOUAMAA, A. AISSAT, M. AIT ADDI et A. BRAHMI, pour leur contribution.

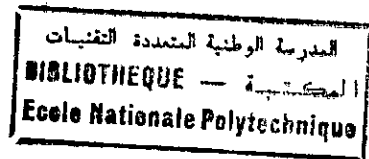
Nos remerciements vont également à nos amis : R. YOUNES, Z. YOUNES, K. CHEKKAT, K. AILLAL, M. MIMOUNI et S. LARBI pour leur aide et soutien.

Nous n'oublions certainement pas nos collègues du Service de Toxicologie de P.H.C.A. qui ont su créer un esprit d'équipe et de collaboration très bénéfique.

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
BIBLIOTHEQUE — المكتبة
Ecole Nationale Polytechnique

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	05
INTRODUCTION	06
I/ - DONNEES GENERALES SUR LES PESTICIDES	06
A/ - DEFINITIONS	06
1/ - Pesticides	06
2/ - Résidus	06
B/ - CLASSIFICATION DES PESTICIDES	06
C/ - CONSIDERATIONS HISTORIQUES	07
1/ - Protection des plantes avant le XIXème siècle	07
2/ - Protection des plantes de 1880 à 1940	07
3/ - Protection des plantes depuis 1940	07
3.1/ - Première génération * 1945 * : les organochlorés	07
3.2/ - Deuxième génération * 1960 * : les organophosphorés et les carbamates	08
3.3/ - Troisième génération * 1975 * : les pyréthriinoïdes	08
D/ - NECESSITE ET INTERET DE L'EMPLOI DES PESTICIDES	09
E/ - LES PESTICIDES : UNE REALITE TOXICOLOGIQUE	10
1/ - Les dangers pour l'environnement	10
2/ - Les dangers pour l'homme	10
3/ - Toxicité des pesticides	11
3.1/ - Les intoxications aiguës ou subaiguës	11
3.2/ - Les intoxications chroniques	12
3.3/ - Les effets à long terme	12
3.4/ - Les outils toxicologiques	13
F) - LES RESIDUS DE PESTICIDES DANS L'ALIMENTATION	14
1/ - Causes de la contamination alimentaire par les pesticides	15
2/ - Choix des aliments à analyser	15
3/ - Les problèmes d'échantillonnage	15
4/ - Les pesticides à rechercher	16
5/ - Méthodes de recherche et de dosage des résidus de pesticides	16
5.1/ - Extraction des résidus de pesticides et purification des extraits	17
5.2/ - Dosage des résidus de pesticides dans les extraits purifiés	17



G/ - CONCLUSION	18
II/ - LA DELTAMETHRINE	19
A/ - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES	19
B/ - TOXICITE DE LA DELTAMETHRINE	21
1/ - Action sur les insectes visés par les traitements	21
2/ - Action sur les plantes traitées	21
3/ - Action sur les insectes non visés	21
4/ - Action sur les milieux aquatiques	22
5) - Action sur les animaux à sang chaud	22
C/ - DEGRADATION ET METABOLISATION DE LA DELTAMETHRINE	23
1/ - Photodégradation de la deltaméthrine	23
2/ - Dégradation de la deltaméthrine dans les sols	23
3/ - Métabolisation de la deltaméthrine chez les animaux à sang chaud	24
3.1/ - Test de biodégradation in-vitro chez la souris	24
3.2/ - Tests de biodégradation in-vitro chez le rat et la souris	24
4/ - Métabolisation de la deltaméthrine chez les insectes	24
5/ - Métabolisation de la deltaméthrine chez les plantes	25
D/ - LES RESIDUS DE LA DELTAMETHRINE	25
1/ - Les résidus de la deltaméthrine observés pour les différents substrats	25
2/ - Normes admissibles pour les résidus de la deltaméthrine dans les aliments	25
3/ - Dosage des résidus de la deltaméthrine	26
3.1/ - Extraction, purification des résidus de deltaméthrine	26
3.2/ - Analyses des extraits purifiés	27
E/ - CONCLUSION	28
PARTIE EXPERIMENTALE	29
INTRODUCTION	30
I/ - MISE AU POINT DE LA METHODE D'ANALYSE DE LA DELTAMETHRINE PAR COLORIMETRIE	30
1/ - Principe	30

2/ - Courbe d'étalonnage

	31
2.1/ - Matériel et réactifs	31
2.2/ - Procédure colorimétrique spécifique aux thiocyanates et cyanures	31
2.3/ - Limite de détection	33
2.4/ - Domaine de linéarité	33
II/ - MISE AU POINT DE LA METHODE D'ANALYSE DE LA DELTA- METHRINE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE	34
1/ - Matériel et réactifs	34
2/ - Préparation de l'appareil	34
3/ - Chromatogramme d'essai	35
III/ - MISE AU POINT DES METHODES DE DOSAGE DE LA DELTAMETHRINE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE DE HAUTE PERFORMANCE	37
A/ - DOSAGE DE LA DELTAMETHRINE PAR CHROMATO- GRAPHIE DE PARTAGE CLASSIQUE	37
1/ - Matériel et réactifs	37
2/ - Spectre ultraviolet de la deltaméthrine dans l'hexane	38
3/ - Détermination de la composition de la phase mobile	38
4/ - Détermination du débit optimal de la phase mobile	39
5/ - Quantité minimale détectable	41
6/ - Domaine de linéarité	42
B/ - DOSAGE DE LA DELTAMETHRINE PAR CHROMATOGRAP- HIE DE PARTAGE A POLARITE DE PHASES INVERSEE	42
a/ - Première méthode	42
1/ - Matériel et réactifs	42
2/ - Spectre ultraviolet de la deltaméthrine dans le méthanol	43
3/ - Régénération de la colonne	43
4/ - détermination de la composition de la phase mobile	43
5/ - Détermination du débit optimal de la phase mobile	44
6/ - Quantité minimale détectable	46
7/ - Domaine de linéarité	47
b/ - Deuxième méthode	47
1/ - Matériel et réactifs	47
2/ - Injections d'essai	47
3/ - Spectre ultraviolet de la deltaméthrine dans l'acétonitrile	48

	48
4/ - Détermination de la composition de la phase mobile	
5/ - Détermination du débit optimal de la phase mobile	50
6/ - Quantité minimale détectable	51
7/ - Domaine de linéarité	52
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;"> <p style="text-align: center;">المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات المكتبة — BIBLIOTHEQUE Ecole Nationale Polytechnique</p> </div>
C/ - RECAPITULATIF	53
D/ - CONCLUSION	53
IV/ - EXTRACTION ET PURIFICATION DES RESIDUS DE LA DELTAMETHRINE A PARTIR DE CERTAINS ALIMENTS	54
1/ - Matériel et réactifs	54
2/ - Extraction	54
3/ - Purification	56
4/ - Taux de récupération de la méthode d'extraction - purification	57
5/ - Corrélation entre les deux méthodes d'analyse : colorimétrie et C.L.H.P.	61
6/ - Discussion	63
7/ - Conclusion	63
V/ - APPLICATIONS PRATIQUES	64
1/ - Etude sur tomate traitée	64
2/ - Dosage de résidus de deltaméthrine dans le blé et la pomme de terre d'importation	65
3/ - Conclusion	70
CONCLUSION GENERALE	71
BIBLIOGRAPHIE	74

INTRODUCTION GENERALE

La qualité de l'alimentation de l'homme est à l'heure actuelle une préoccupation majeure du monde moderne. Elle implique plusieurs domaines, tel que celui des pesticides.

En effet, l'utilisation des pesticides agricoles s'est avérée être une nécessité à travers le monde entier, et ce depuis l'antiquité [01], certaines espèces d'insectes pouvant être indirectement nuisibles pour l'homme en s'attaquant aux cultures [02]. C'est pourquoi il s'est avéré indispensable de protéger les cultures et les récoltes par l'usage de produits chimiques qui contribuent ainsi à en améliorer la qualité, la quantité et la conservation[01].

Cependant, il a été reconnu que les résidus consécutifs à l'utilisation plus ou moins intensive des pesticides sont un facteur indéniable de pollution des aliments et des chaînes biologiques [01]. Sur l'homme, ceci peut entraîner des effets toxiques pouvant être même mutagènes et cancérigènes [03].

C'est pour cette raison que plusieurs générations de pesticides se sont succédées au cours du temps, les chercheurs essayant de mettre au point des produits de moins en moins dangereux pour l'homme et son environnement.

Dès l'Antiquité, le soufre et l'arsenic étaient connus pour leur action contre les insectes. Ce n'est qu'au XIX ème siècle que s'est développé l'emploi des pesticides d'origine naturelle (réténone et pyrèthre) ou des composés d'origine minérale (produits à base de cuivre et d'arsenic). Mais dans les années 1920, les progrès des méthodes d'analyse ont permis d'établir que les fruits et légumes traités recelaient des concentrations de pesticides potentiellement toxiques pour les consommateurs [02]. Ces produits ont été abandonnés pour une génération de produits organiques synthétiques plus efficaces. Les premiers ont été les organochlorés, qui ont sauvé des milliers de vies humaines de la famine, mais qui se sont révélés très nocifs par leur rémanence. Ils ont été suivis par les organophosphorés et les carbamates, qui se dégradent plus vite, mais qui posent un problème de toxicité aiguë pour les mammifères. C'est dans ce contexte qu'ont ensuite été découverts les pyrèthrinoïdes de synthèse en 1975 . Ils se caractérisent par une puissance insecticide nettement supérieure à celle des insecticides classiques, une spécificité d'action et une biodégradabilité qui semblent satisfaisantes au plan de l'environnement. Cependant, même s'ils sont considérés comme les pesticides de l'avenir, il ne faut pas occulter leurs dangers potentiels [04].

En effet, leur utilisation à grande échelle et de façon intensive peut avoir des conséquences néfastes sur l'homme et son environnement. Les effets directs qu'ils peuvent avoir ont été largement médiatisés (intoxications aiguës, disparition de certains insectes utiles, contamination des nappes aquifères, etc...) [05]. Par contre, les effets des faibles doses à long terme ont reçu beaucoup moins d'attention. Pour un certain nombre de pesticides, dont la persistance n'est pas nécessairement forte et qui ne sont pas en principe susceptibles de donner lieu à un phénomène de bioaccumulation, l'ingestion fréquente ou quotidienne de faibles doses par la consommation d'eau, de lait, de légumes peut se traduire par des effets chroniques (actions mutagène et cancérigène possibles) [03]. Il n'est pas étonnant qu'ils soient l'objet de débats et polémiques passionnés, et le domaine des pesticides est certainement l'un de ceux où les controverses les plus vives se donnent libre cours. Il y a d'un côté leurs défenseurs acharnés (à leur tête, Norman Borlaug qui a reçu le prix Nobel en 1970 pour sa contribution à l'agriculture dans les pays du Tiers - Monde) qui soutiennent que les pesticides ont sauvé beaucoup plus d'êtres humains qu'ils n'en ont tué. D'un autre côté, il y a les écologistes et les associations de protection des consommateurs qui dénoncent les méfaits de ces produits sur l'écosystème et la santé humaine [02].

De plus, dans les pays du tiers monde, l'impact des pesticides y est plus grave que dans les pays industrialisés. En effet, du fait de la politique du double standard, les règles qui régissent l'emploi des pesticides dans le tiers monde et dans les pays industrialisés ne sont pas les mêmes : les garde - fous mis en place pour protéger les utilisateurs et l'écosystème des pays développés n'existent pas dans le tiers monde; les pesticides les plus dangereux y sont librement écoulés alors qu'ils sont interdits ou sévèrement réglementés dans les pays exportateurs [02].

L'absence de données concernant l'Algérie, nous a poussé à effectuer une enquête auprès des différentes structures actives dans le domaine des pesticides. De ces entretiens, il ressort :

- que l'industrie des pesticides en Algérie est encore à l'état embryonnaire et limitée à une activité de formulation d'un certain nombre de produits. Elle n'est pas en mesure de satisfaire en quantité et en qualité la demande du secteur agricole qui reste couverte en grande partie par l'importation.
- que plus de 400 spécialités de pesticides appartenant à toutes les familles chimiques sont homologuées et commercialisées en Algérie, après avoir eu l'aval d'une commission composée d'un toxicologue et des représentants des secteurs intéressés (agriculture, commerce et services de contrôle),
- l'insuffisance, voire l'absence du contrôle de qualité, et l'inexistence de service d'information et de documentation technique.

- les faiblesses des structures de soutien technique, de vulgarisation et de promotion. Tout cela a engendré des pratiques malsaines sur le terrain, à savoir : traitements abusifs, non respect des délais de récoltes et utilisation de produits déclassés ou périmés,

- l'absence d'une structure spécialisée dans le dosage des résidus de pesticides. Cette activité est confiée, ponctuellement, aux laboratoires de toxicologie ou de contrôle de qualité des aliments. Cette situation est inquiétante dans la mesure où notre pays importe une grande quantité de denrées alimentaires.

C'est alors que nous nous sommes proposés à travers ce travail de contribuer à une meilleure maîtrise de l'emploi des pesticides en Algérie, par la mise au point de techniques analytiques :

- faciles à mettre en oeuvre,

- efficaces,

permettant la recherche et le dosage des résidus de pesticides dans les aliments.

Après discussion avec des spécialistes, notre attention s'est portée sur la deltaméthrine, qui est considérée comme le leader de la famille des pyréthrinoïdes de synthèse. Elle est la plus vendue actuellement dans le monde; elle est de plus importée et utilisée en Algérie. Son utilisation est autorisée dans plus de 115 pays sur plus de 50 types de cultures. Son domaine d'application s'est largement développé depuis son élaboration. Conçue initialement pour la lutte anti - déprédateurs en plein champ, elle est actuellement l'insecticide le plus utilisé pour la conservation des grains dans les silos et son usage domestique se répand de plus en plus (contre les cafards, mouches et autres insectes d'immeuble) [06].

En ce qui concerne les aliments, notre choix s'est orienté sur des produits de consommation courante en Algérie : tomate, blé, pomme de terre. La tomate est un aliment très prisé et qui est commercialisé juste après sa récolte du fait même de sa nature. Par ailleurs, l'Algérie est le plus gros importateur mondial de blé; l'importation de la pomme de terre est aussi devenue une habitude pour combler les déficits accusés par le marché local.

Pour atteindre l'objectif de ce travail, plusieurs étapes ont été nécessaires :

1 - une bibliographie approfondie,

2 - une initiation aux méthodes d'analyse des résidus de deltaméthrine citées dans la littérature : chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.), chromatographie liquide de haute performance (C.L.H.P.), colorimétrie,

3 - une initiation aux méthodes d'extraction et de purification des résidus de deltaméthrine dans les aliments,

4 - la mise au point de techniques de dosage de la deltaméthrine, en fonction du matériel et des produits disponibles :

- par colorimétrie, selon une méthode spécifique aux cyanures et thiocyanates [07], [08],
- par C.P.G., avec un détecteur à capture d'électron, sur une colonne S.E.30,3% [09],
- par C.L.H.P. avec un détecteur spectrophotométrique U.V./Visible, selon trois méthodes :
 - * chromatographie de partage classique avec une colonne SPHRISORB 5 CN (O.S.I.), une phase mobile constituée d'un mélange hexane - éthanol et une détection U.V. à 224 nm [10],
 - * chromatographie de partage à polarité de phases inversée , de deux façons différentes :
 - » avec une colonne ULTRASPHERE ODS 5 (BECKMAN), une phase mobile méthanol - eau et une détection U.V à 225 nm [11];
 - » avec une colonne SPHERISORB ODS 2 (O.S.I.), une phase mobile acétonitrile - eau et une détection U.V. à 233 nm [12] .

5 - La recherche et la mise au point de méthodes d'extraction et de purification des résidus de deltaméthrine contenus dans des aliments fortifiés au laboratoire à la deltaméthrine, en tenant compte des données bibliographiques et de leur adaptabilité à nos moyens. Le souci d'obtention des meilleurs rendements possibles nous a conduit à une méthode basée sur une extraction au chloroforme, une partition liquide - liquide avec de l'eau bi - distillée, suivie d'une purification sur une colonne de gel de silice activé[13].

A l'issue de ce travail, une comparaison des résultats obtenus par C.L.H.P. et par colorimétrie a été possible.

6 - Toute l'étude précédente nous a permis de passer enfin à quelques applications pratiques en dosant les résidus de deltaméthrine dans des échantillons :

- * de tomates cultivées sous serre et traitées à des doses connues de deltaméthrine à l'Institut de Technologie des Cultures Maraîchères Intensives (I.T.C.M.I.) de Staouali,
- * de pommes de terre d'importation,
- * de blé d'importation.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Parmi les diverses activités humaines susceptibles de provoquer des nuisances, il faut citer la mise en place des techniques agricoles modernes. En effet, l'utilisation plus ou moins intensive des pesticides peut être un facteur de pollution des aliments et des chaînes biologiques en général, du fait des résidus résultants de ces traitements [01].

I/ - DONNEES GENERALES SUR LES PESTICIDES

A/ - DEFINITIONS

1/ - Pesticides

Le terme pesticide dérive du mot anglais "pest" qui désigne tout animal ou plante (virus, bactérie, champignon, mollusque, insecte, rongeur etc...), susceptible d'être nuisible à l'homme et son environnement. Les pesticides sont toutes les substances chimiques, naturelles ou de synthèse, utilisées en agriculture pour contrôler les différentes sortes de nuisibles, à l'exception des produits à usage vétérinaire [03].

2/ - Residus

Un résidu est une substance chimique quelconque qui persiste dans un milieu donné après qu'elle même ou d'autres composés lui donnant naissance aient été introduits volontairement ou non dans le dit milieu et dont la présence est de ce fait qualitativement ou quantitativement anormale [14].

B/ - CLASSIFICATION DES PESTICIDES

Les pesticides constituent un ensemble de composés très vaste et très hétérogène. Il est commode de les classer selon la nature du ravageur visé. On distingue [03] :

- **Les insecticides** : substances destinées à tuer les insectes et les espèces voisines comme les acariens (acaricides), les pucerons (aphicides) et les substances qui perturbent le développement normal de ces espèces en empêchant l'éclosion des oeufs (ovicides) et des larves (larvicides).
- **Les herbicides** : qui détruisent les végétaux herbacés ou ligneux ou qui limitent leur croissance.
- **Les fongicides** : qui s'attaquent aux champignons parasites des cultures.
- **Les nématocides**: utilisés surtout dans le traitement des sols pour détruire les vers parasites.

- **Les molluscides et les hélicides** : destinés à lutter contre les limaces et les escargots.
- **Les rodenticides (raticide et muricide) et les taupicides** : qui s'adressent aux rongeurs et aux autres lagomorphes .
- **Les corvicides et corvifuges** : qui détruisent ou éloignent l' ensemble des oiseaux ravageurs vrais ou occasionnels, des cultures.
- **Les produits répulsifs** : destinés à éloigner des mammifères de taille plus importante (renards, sangliers, ours etc...).

C/- CONSIDERATIONS HISTORIQUES

1/ - Protection des plantes avant le XIXème siècle

Avant le XIXème siècle, la lutte chimique pour la protection des plantes était basée essentiellement sur des insecticides naturels : le soufre, l'arsenic, la nicotine, les extraits de fleurs de pyrèthre, les arséniates, la roténone, la cryolite [03].

2/ - Protection des plantes de 1880 à 1940

A cette époque, on a découvert les vertus fongicides du cuivre et des sels de mercure, utilisés pour traiter les semences; les propriétés insecticides de l'arsénite de cuivre (Doryphore), les propriétés herbicide de l'acide sulfurique, du sulfate de fer, du nitrate de cuivre, des chlorates et perchlorates ne seront utilisées que 50 ans plus tard. L'arsenal phytosanitaire est alors essentiellement composé de substances minérales et de quelques composés organiques naturels (pyrèthre, roténone , nicotine, huiles de pétrole) et synthétiques (acide cyanhydrique, chloropicrine, bromure de méthyle)[03].

3/ - Protection des plantes depuis 1940

Pour très importantes qu'elles soient, les découvertes des pesticides minéraux ne sont que le prologue au développement considérable de la recherche de nouveaux pesticides grâce aux ressources inépuisables de la chimie organique.

Cette histoire des insecticides de synthèse, à peine vieille de quarante ans, sera marquée par trois " temps forts " dont chacun correspond à la mise au service de l'agriculture d'une nouvelle génération de produits [06].

3.1/ -Première génération * 1945 *: les organochlorés

Le plus connu est le dichlorodiphényltrichloréthane (D.D.T.). Il a permis dans l'après deuxième guerre mondiale de combattre les insectes vecteurs de grandes endémies et de sauver des quantités de cultures alimentaires. Si les apports de ces insecticides ont été très importants, ils n'en avaient pas moins des inconvénients majeurs :

- Non dégradabilité et persistance dans l'environnement.

- Accumulation, dans les graisses de l'homme et des animaux, des résidus susceptibles de créer des perturbations physiologiques [06].

3.2/ - Deuxième génération * 1960 *: les carbamates et les organophosphorés

Ces produits ne présentent généralement plus les mêmes problèmes de persistance ni d'accumulation dans les graisses. Par contre, certains d'entre eux ont une toxicité aiguë pour les animaux à sang chaud qui est loin de marquer un progrès [06].

3.3/ -Troisième génération * 1975 *: les pyréthri-noïdes

Connus depuis au moins le premier siècle en Chine, ce n'est qu'au XIX ème siècle que les insecticides à base d'extraits de fleurs de pyrèthre sont introduits en Europe. Des composés à action analogue à la pyrèthrine naturelle, extraite des fleurs de pyrèthre, ont été alors élaborés: les pyrèthri-noïdes [04].

Chimiquement, les pyrèthri-noïdes se définissent comme des esters composés d'un radical acide à un ou deux carbones asymétriques et d'un radical alcool avec ou sans carbone asymétrique [04].

Historiquement, ils peuvent se classer en deux grandes catégories : les pyrèthri-noïdes photolabiles (c'est-à-dire qui se dégradent à la lumière), le plus souvent limités à l'usage domestique, et les pyrèthri-noïdes photostables qui ont ouvert le champ des applications agricoles [06].

Ces produits sont des esters halogénés, chlorés ou bromés. Leur dégradation est suffisamment lente pour que les applications agricoles deviennent possibles. Ils se caractérisent essentiellement par :

- Leur puissance insecticide, nettement supérieure à celle des insecticides classiques.
- Leur spécificité vis-à-vis des insectes qui entraîne une bonne sécurité d'emploi.
- Leur dégradabilité satisfaisante au plan de l'environnement [06].

Les pyrèthri-noïdes peuvent être considérés comme une génération de pesticides qui devraient progressivement se substituer, dans les années qui viennent, aux composés organochlorés pratiquement retirés du marché et aux organophosphorés [04].

Toutes ces considérations, nous ont poussés à étudier un insecticide appartenant à cette famille : la **deltaméthrine**. Ce choix se justifie par le fait que non seulement il est le plus puissant d'entre eux, mais aussi le plus vendu sur le marché mondial [06]. Une étude bibliographique approfondie portant sur cet insecticide sera traitée ultérieurement.

D/ - NECESSITE ET INTERET DE L'EMPLOI DES PESTICIDES

Les pertes imputables aux ennemis des principales cultures mondiales dépassent le tiers de la production potentielle et la moitié des récoltes effectives. En plus de limiter le préjudice pondéral, l'emploi des pesticides minimise bon nombre d'autres préjudices parmi lesquels on peut citer :

- Le préjudice diététique (les parasites entraînent des modifications dans la plante hôte, comme la diminution de l'amidon dans les grains parasités).
- Le préjudice sanitaire (transmission des virus par les pucerons).
- Le préjudice organoleptique (mauvais goût des farines issues de céréales parasitées)[15].

En plus de l'apport des pesticides en agronomie, il ne faut pas oublier l'utilité de ces produits dans l'amélioration de l'état sanitaire des populations: c'est grâce au D.T.T. que près d'un milliard d'hommes a été libéré du paludisme, et que les fongicides sont l'outil principal de lutte contre *Aspergillus flavus* dont la toxine est un des cancérigènes les plus puissants [03]. C'est pourquoi l'utilisation des pesticides est en constante augmentation à travers le monde, comme le montre le tableau n° I.

	Année 1980 Utilisation Totale M. \$	Année 1990 Utilisation Totale M. \$	L'an 2000 Utilisation Totale M. \$	Année 1980 à l'an 2000 Taux d'Acrois- sement par an %
PAYS DEVELOPPES	2083	3328	5100	4,6
AFRIQUE	344	550	890	4,9
EXTREME - ORIENT	725	1241	1908	5,0
AMERIQUE LATINE	749	1132	1695	4,2
PROCHE-ORIENT	266	405	607	4,2
PAYS A FAIBLES REVENUS	701	1208	1949	5,2

Tableau n° I : perspective d'utilisation des pesticides de 1980 à l'an 2000 [16].

E/ - LES PESTICIDES : UNE REALITE TOXICOLOGIQUE

On estime qu'actuellement 4 millions de substances chimiques ont été isolées ou synthétisées, 60000 d'entre - elles sont employées, 4000 sont des médicaments, 2500 sont des additifs alimentaires et 1500 sont des pesticides; le reste se trouve sous forme de produits chimiques employés dans l'industrie, en agriculture et dans les biens de consommation. Il est évident qu'un tel foisonnement de substances chimiques a un retentissement sur l'homme et sur l'environnement [03].

1/ - Les dangers pour l'environnement

Les exemples d'effets toxiques à court terme sur les végétaux, la faune du sol, les insectes "domestiques", le gibier, la flore et la faune aquatique sont nombreux, mais plus insidieux et plus préoccupants sont les effets à long terme et voici quelques exemples en guise d'illustration[03] :

- A propos de la rémanence, on admet que la demi -- vie dans l'eau du D.T.T est de 10 ans et de la diéldrine de 20 ans; dans les sols, ces durées sont bien plus longues (40 ans pour le D.T.T.).

- A propos du cheminement de ces produits, on a retrouvé du D.T.T. (0,2 p.p.m.) et du P.C.B. (10 p.p.m.) dans les graisses d'animaux des régions antarctiques.

- A propos de l'homme, dernier maillon de la chaîne alimentaire, son taux d'imprégnation est loin d'être négligeable: 2 p.p.m. de D.T.T. dans les graisses d'un européen moyen et 13,5 p.m.m. dans celle d'un américain moyen [03].

2/ - Les dangers pour l'homme

L'importance pour l'homme du risque toxique paraît difficilement chiffrable en raison de la difficulté d'estimer les effets à long terme. Au contraire, le nombre des intoxications aiguës est assez facilement appréhendable : les empoisonnements accidentels sont estimés par l'O.M.S. à 500.000 par an et le taux de mortalité pour les pays disposant de centre antipoison est de l'ordre de 1%, les accidents ayant une suite mortelle sont donc supérieurs à 5.000 par an [03].

Les effets à long terme sont très certainement sous-estimés, soit parce que les troubles présentés sont minimes et non pris en considération, soit parce qu' il est impossible d'établir une relation de cause à effet, doublé en cela par la difficulté ou l'impossibilité d'établir des enquêtes épidémiologiques.

Les questions les plus importantes et les plus graves se rapportant aux effets à long terme des pesticides concernent leurs actions mutagènes et cancérogènes possibles[03].

3/ - Toxicité des pesticides

La toxicité des pesticides dépend d'un certain nombre de facteurs parmi lesquels on cite les formes d'utilisation (gaz, liquide, poudre ou autre solide), les moyens d'application et d'emploi (pulvérisation, dispersion, etc.), et les conditions d'utilisation, mais le facteur principal qui conditionne la toxicité de ces produits concerne le mode de pénétration et le devenir du produit dans l'organisme [03]:

- La pénétration par voie respiratoire est la plus redoutable car l'air pulmonaire et le sang circulant sont directement en contact.
- La pénétration par voie cutanée dépend de l'affinité du produit (liposolubilité) pour la barrière cutanée, de l'état de la peau et de la surface exposée.
- Le mode de pénétration digestif est exceptionnel (suicides, méprises).

Une fois dans l'organisme, les pesticides sont plus souvent éliminés dans l'air expiré, les fécés ou les urines; ils peuvent, c'est le cas le plus fréquent, être auparavant métabolisés spécialement dans le foie. Si ces transformations aboutissent le plus souvent à des produits moins toxiques, plus hydrosolubles et donc plus facilement éliminés, il peut se former parfois des métabolites intermédiaires plus réactifs, plus toxiques que le produit initial (cf. Parathion--Paranoxon). Ces produits et/ou leurs métabolites peuvent être stockés, séjourner plus ou moins longtemps avant d'être relargués dans certains organes ou tissus, comme le tissu adipeux dans lequel se concentrent facilement les pesticides organochlorés par exemple [03].

Il est classique de distinguer plusieurs types d'intoxications aiguës ou subaiguës, chroniques et à long terme [03].

3.1/ - Les intoxications aiguës ou subaiguës

Elles surviennent lorsque la substance est administrée en une seule fois. Les symptômes qu'elles provoquent ont été observés chez l'animal au cours d'expérimentations en laboratoire et chez l'homme lors d'accidents ou de suicides.

Les " tableaux cliniques " ainsi observés sont résumés dans le tableau n°II.

<p>* PESTICIDES ORGANOCHLORES:</p> <ul style="list-style-type: none"> * troubles digestifs. * troubles neurologiques. <p>* PESTICIDES ORGANOPHOSPHORES:</p> <ul style="list-style-type: none"> * effets anti-cholinéserasiques. * troubles digestifs. * troubles respiratoires. * troubles cardio-vasculaires. * troubles neuro-musculaires <p>* PESTICIDES DIVERS:</p> <ul style="list-style-type: none"> * prolifération des cellules fibroplastiques * troubles neurologiques, tétanie, oedèmes pulmonaires, troubles rénaux et hépatiques. * accidents hémorragiques.
--

Tableau n° II : quelques symptômes d'intoxications aiguës par les pesticides [03].

3.2/ - Les intoxications chroniques

Chez l'homme, elles sont surtout rencontrées dans les milieux professionnels de fabricants et d'utilisateurs de pesticides et leurs cortèges de symptômes sont généralement les suivants [03]:

- atteintes dermatologiques avec congestion.
- atteintes digestives.
- atteintes cardio-vasculaires.
- atteintes respiratoires.
- manifestations neurologiques périphériques avec fatigue musculaire.
- troubles du système hématopoïétique.
- atteintes rénales.
- atteintes génitales et infertilité.
- manifestations allergiques.

3.3/ - Les effets à long terme

Pour les raisons déjà signalées, ce sont les plus difficiles à cerner d'autant que le nombre et la fiabilité des tests d'appréciation sont assez réduits. Dans ce cadre les deux risques moyens à redouter sont l'action mutagène potentielle et l'action cancérigène possible.

Les experts de l'O.M.S. [17] et de certaines instances autorisées [18], [19], ont déclaré que " la capacité d'un agent chimique à provoquer des mutations relève à la fois de mutations héréditaires et de la cancérogène citée " et ils ont estimé:

- Mutagènes : le Folpel et le Captane.
- Cancérogènes : lindane, aldrine, diéldrine, chlordane, héptachlore, D.D.T, toxaphène et le monuron.
- Tératogènes: l'acide dichloro-2-4-phénoxyacétique (2,4 D.) et l' acide trichloro-2-4-5-phénoxyacétique (2, 4, 5 T.).

3.4/ - Les outils toxicologiques

Les règles et les protocoles pour déterminer la toxicité des pesticides sont très codifiés [17].

* Dose Létale 50 (D.L. 50)

Cette dose est utilisée pour exprimer la toxicité aiguë d'un produit; elle représente la quantité de substance nécessaire pour tuer 50 % des animaux d'un lot expérimental.

Elle est exprimée en mg ou en g par kg d'animal, elle n'est valable que pour une espèce donnée (rats, chiens etc...) et pour une voie d'administration précise (orale, respiratoire, dermique, etc...). Le tableau n° III illustre la toxicité des pesticides mesurée par la D.L.50.

	D.L. 50 (RATS) mg/kg de poids corporel			
	Par voie orale		par voie dermique	
	solides	liquides	solides	liquides
Ia Extrêmement dangereux	5 au moins	20 au moins	10 au moins	40 au moins
Ib Très dangereux	5 - 50	20 - 200	10 - 100	40 - 400
II Modérément dangereux	50 - 500	200 - 2000	100 - 1000	400 - 4000
III Peu dangereux	plus de 500	plus de 2000	plus de 1000	plus de 4000

Tableau n° III : exemple de classification des pesticides d'après leur toxicité aiguë (D.L. 50) [20].

*** Concentration Maximale Admissible (C.M.A.)**

Indique la concentration maximale admissible dans l'atmosphère des lieux de travail.

*** Dose Journalière Admissible (D.J.A.)**

C'est la dose d'un produit qui peut-être ingérée quotidiennement par un individu pendant sa vie entière .Elle est exprimée en mg/ kg de poids corporel. Elle permet de dire avec une très haute probabilité de garantie qu'à cette dose le produit ne sera pas nocif mais dans ce domaine il ne sera pas possible de donner des certitudes absolues.

*** Limite Maximale de Résidu (L.M.R.)**

Elle se rapporte plus directement aux denrées alimentaires, et représente les teneurs de produits à ne pas dépasser dans un produit alimentaire; elle est exprimée en mg/kg de produit frais.

*** Teneurs Indicatrices (T.I.)**

En l'absence de D.J.A. établie ou de L.M.R., on donne des teneurs indicatrices (mg/kg de produits frais) qu'il convient de ne pas dépasser.

*** Dose sans effet (No Effect level)**

Exprimée en mg/kg/jour, c'est la dose journalière maximale qui, administrée pendant une durée de trois mois à deux ans ne produit pas d'effets toxiques chez l'animal considéré.

Les travaux de la F.A.O. / O.M.S. ont établi les D.J.A. et les L.M.R. pour la quasi-totalité des pesticides et dans bon nombre de denrées alimentaires classées par groupe de produits; elles sont révisées périodiquement par cet organisme en fonction des nouvelles données expérimentales.

F/ - LES RESIDUS DE PESTICIDES DANS L'ALIMENTATION

La présence de pesticides dans notre alimentation est une réalité effective qui inquiète les consommateurs, et dans l'esprit de bon nombre d'entre eux s'est substituée la notion d'aliment vecteur de pollution tout comme les eaux continentales, la mer et

l'atmosphère pour lequel de très importants programmes de surveillance ont été établis alors que dans le domaine des produits alimentaires, les données disponibles étaient assez limitées jusqu'à ces dernières années [03].

1/ - Causes de la contamination alimentaire par les pesticides

La pollution alimentaire provient pour une part de la contamination de l'environnement par les produits chimiques fabriqués par l'industrie. Ceci rejoint le problème général de la pollution de l'environnement par les effluents industriels rejetés après usage (résidus de pesticides par exemple).

Les résidus d'opération de traitements des cultures constituent une autre cause de contamination. Les modes d'emploi sont réglementés et conçus pour que les quantités de ces résidus ne dépassent pas certaines normes, il faut cependant éviter la répétition des traitements, les surcharges et les détournements d'usage qui conduiraient aux dépassements de ces seuils. C'est *la voie la plus importante de la présence des pesticides dans l'alimentation* [16].

2/ - Choix des aliments à analyser

Pour procéder au choix des aliments à analyser, deux critères peuvent être appliqués :

- a) - Les aliments les plus consommés en poids doivent être étudiés en priorité.
- b) - Les aliments présentant une contamination notoire et qui apportent une contribution significative à la ration alimentaire seront analysés systématiquement.

A l'échelon mondial, la F.A.O. et l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture ont, en 1979 adopté ces " critères aux fins de contrôle des résidus de pesticides dans les aliments " en faisant référence au Codex Alimentarius [16].

3/ - Les problèmes d'échantillonnage

Trois possibilités pour l'échantillonnage s'offrent immédiatement à l'esprit sur la table familiale, dans les restaurants collectifs ou non, et dans les magasins d'alimentation. Les trois modes de prélèvement ont chacun leurs inconvénients.

Le plus facile à réaliser est celui effectué dans le commerce, de façon totalement aléatoire et non pour analyser un échantillon présumé suspect. Il faut étaler les prélèvements dans le temps pour tenir compte des variations saisonnières, et les étaler aussi

aussi géographiquement. Pour des pays importateurs de certaines denrées alimentaires, des prélèvements au niveau des points d'entrée des territoires (Ports, Aéroports etc...), restent la manière la plus sûre de contrecarrer des exportateurs peu scrupuleux, surtout quand il s'agit de pays en voie de développement [03].

4/ - Les pesticides à rechercher

Toutes les catégories de pesticides sont susceptibles de se retrouver dans nos aliments. Les organochlorés, qui, bien qu'interdits un peu partout dans le monde depuis 1972, contaminent et contamineront longtemps les aliments. Les organophosphorés, les carbamates et tous les autres produits qu'ils soient insecticides, herbicides, fongicides ou autres doivent être également recherchés [16].

Il apparait cependant difficile de rechercher tous les contaminants dans tous les échantillons. Il est donc souhaitable de constituer des couples aliments/contaminants en tenant compte d'une part, de l'importance de l'aliment dans l'alimentation de la population et d'autre part, de la probabilité de rencontrer tel ou tel polluant dans cette denrée [03].

5/ - Méthodes de recherche et de dosage des résidus de pesticides

La méthode idéale de dosage des résidus de pesticides devrait permettre, à partir d'une seule extraction de quantifier tous les résidus susceptibles d'être présents dans un échantillon.

En fait, déjà, au niveau de l'extraction, il faut toujours avoir à l'esprit qu'il n'existe aucun solvant universel capable d'extraire l'ensemble des pesticides utilisés. La plupart des résidus de pesticides sont solubles dans les solvants organiques, mais leur solubilité peut-être très différente selon les cas. De plus, certains d'entre eux sont solubles dans l'eau et de ce fait parfois non extractibles avec les solvants organiques [20].

A cela, il faut ajouter que les résidus recherchés dans les produits sont pratiquement toujours présents dans des proportions infimes, de l'ordre de quelques parties par millions (mg/kg ou p.p.m.) et même souvent à des doses cent fois ou mille fois plus faibles encore.

La difficulté du problème est encore augmentée par l'existence de plusieurs centaines de produits susceptibles d'être utilisés en agriculture. Ces derniers dans certains cas ne se trouvent plus sous leur forme initiale, mais sont remplacés par leurs métabolites [21].

Les techniques sont le plus souvent le résultat de l'orientation des recherches particulières de chaque laboratoire, de la volonté de résoudre certains problèmes nationaux. Cependant, le schéma général de toute technique d'analyse des résidus de pesticides est le suivant:

- Extraction, purification, et concentration de l'extrait.
- Séparation et détection des résidus.

Il est difficile d'étudier dans le détail et séparément ces deux phases analytiques, car dans la plupart des cas la première est réalisée en fonction de l'autre; c'est pourquoi, après avoir donné les principes de ces différentes phases, nous indiquerons les méthodes couramment utilisées pour les plus importantes catégories de produits alimentaires [21].

5.1/ - Extraction des résidus de pesticides et purification des extraits

Les méthodes employées ne doivent pas altérer la structure des pesticides, il est donc nécessaire d'éviter :

- Les fortes températures.
- Les milieux fortement acides ou basiques.

L'extraction des résidus de pesticides des matières alimentaires est le plus souvent réalisée selon les principes généraux de la méthode de Mills [22]. Elle se fait par des solvants organiques, dont le choix peut varier d'un laboratoire à un autre. Les extraits obtenus sont purifiés dans des colonnes à chromatographie contenant du Florisil [23] ou de l'alumine [24]. Stijve et Cardinale [25] ont décrit une technique d'extraction des résidus de pesticides par entraînement à la vapeur d'eau suivie d'une purification réalisée par double partage acétonitrile/hexane et chromatographie sur Florisil.

5.2/ - Dosage des résidus de pesticides dans les extraits purifiés

Il existe un très grand nombre de méthodes de dosage faisant appel aux techniques les plus diverses:

- Les techniques spectrophotométriques par absorption dans l'infrarouge, le visible et l'ultraviolet [26].
- Les méthodes colorimétriques [27].
- La chromatographie sur couche mince (C.C.M.) [27],

- La chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) avec le plus souvent un détecteur à capture d'électrons (D.C.E.) [22],
- La chromatographie liquide de haute performance (C.L.H.P.) qui peut s'appliquer à détecter la plupart des pesticides [28],
- La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [29].

G) - CONCLUSION

Lorsqu'on examine les conséquences possibles pour l'hygiène de la présence de pesticides dans l'environnement en général et dans les aliments en particulier, il faut avant tout se garder de deux attitudes extrêmes: en affirmer le danger irrémédiable ou en garantir l'innocuité absolue.

Les pesticides présentent des avantages évidents en agriculture mais ils ont une nocivité indéniable pour les mammifères; en conséquence, nous devons prendre des mesures soigneusement pensées pour diminuer, voire annuler leur nuisance.

Le contrôle et la prévention exigent des laboratoires bien équipés en matériel très varié et très coûteux avec un personnel hautement qualifié et l'expert responsable doit avoir des connaissances étendues dans des domaines scientifiques très différents; comme dans beaucoup de domaines biologiques, le progrès au bénéfice de l'homme est fonction de l'effort financier.

II/ - LA DELTAMETHRINE

A/ - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

La deltaméthrine est un insecticide appartenant à la famille des pyréthrinoïdes; c'est un ester dibromé :

" (S)- α -cyano-m-phénoxybenzyl (1R, 3R)-3-(2,2 - dibromovinyl)-2,2 - diméthylcyclopropanecarboxylate ", de formule brute $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$, et dont la formule développée est représentée sur la figure n° 1a.

Elle présente trois carbones asymétriques et donc huit stéréoisomères, dont le plus actif est le R.R.S.. La synthèse spécifique de l'isomère le plus actif se fait en trois étapes :

- 1- la synthèse de la copule acide qui est l'acide (1R, 3R) -3- (2,2 - dibromovinyl) - 2,2 - diméthylcyclopropane carboxylique (g),
- 2- ensuite celle de la copule alcoolique qui est l' α -hydroxy α 3 - phénoxyphényle acétonitrile (h),
- 3- enfin on estérifie la copule alcoolique par le chlorure de l'acide pour obtenir la deltaméthrine [30].

La figure n° 1b représente ces deux premières étapes.

La deltaméthrine est une poudre cristalline blanche inodore, de poids moléculaire 505,2 et dont le point de fusion se situe entre 98 et 101°C. Sa solubilité est bonne dans l'acétone, l'éthanol, le dioxane, et les solvants aromatiques; elle est quasiment insoluble dans l'eau. Sa tension de vapeur est pratiquement nulle (de l'ordre de 10^{-7} mm Hg). C'est une molécule stable qui ne se dégrade pas, même après six mois d'exposition à 40°C [30].

Toutes ces propriétés laissent à penser que la deltaméthrine est stable dans les conditions naturelles de son application en plein champ. Voyons à présent quelle est sa toxicité vis-à-vis de l'environnement. De nombreuses recherches ont été effectuées dans ce sens, et nous allons en présenter l'essentiel .

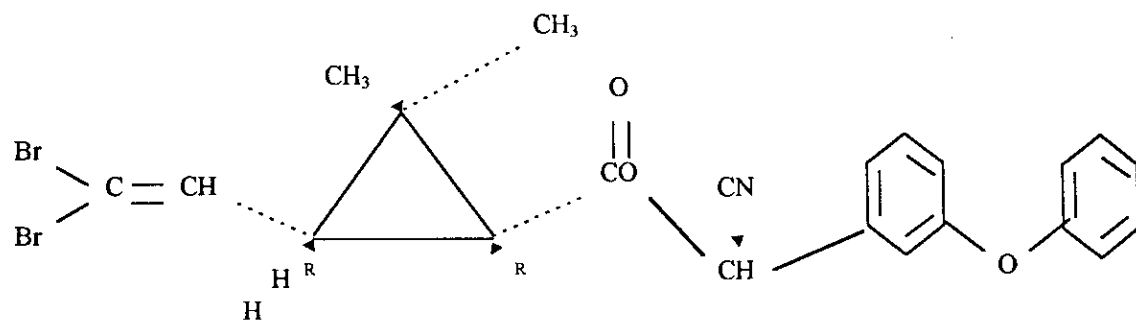


Figure n°1a : formule développée de la deltaméthrine

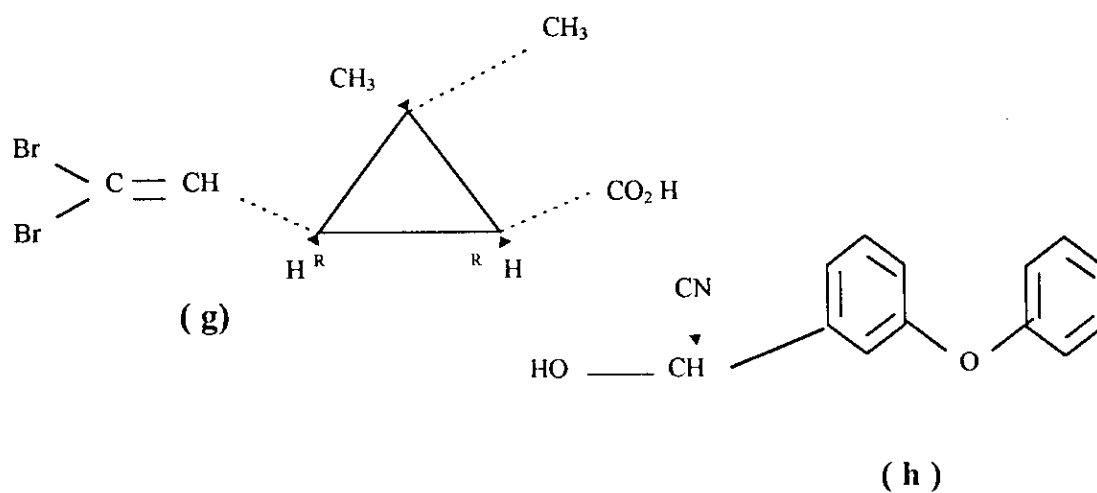


Figure n° 1b : représentation des deux premières étapes de fabrication de la deltaméthrine.

B/ - TOXICITE DE LA DELTAMETHRINE [30]

1/ - Action sur les insectes visés par les traitements

La deltaméthrine est un insecticide qui agit par contact et par ingestion; son mode d'action est toutefois mal connu. La cuticule de l'insecte est riche en lipides, or la deltaméthrine est lipophile, d'où une mise en contact facilitée.

A des doses diverses, on a pu observer quatre types d'effets. Ainsi à fortes doses, il y a un effet de répulsion, à doses normales il y a létalité, à faible doses il y a effet d'abattage ou " *Knock Down* " et à doses très faibles, il y a un effet anti-appétant [30].

Nous présentons à titre indicatif dans le tableau n° IV les données mettant en évidence la puissance insecticide de la deltaméthrine par rapport à d'autres insecticides, et par conséquent l'intérêt de son utilisation.

INSECTICIDES	DOSES PRATIQUES D'UTILISATION EN AGRICULTURE (g/ha)
* ORGANOCILORES	
D.D.T.	1000 à 2000
Lindane	250 à 600
* ORGANOPHOSPHORES	
Parathion	250 à 800
* CARBAMATES	
Carbaryl	750 à 1500
* PYRETHRINOIDES	
Perméthrine	50 à 250
Deltaméthrine	0,5 à 17,5

Tableau n° IV: doses pratiques d'utilisation en agriculture de différents insecticides [30].

2/ - Action sur les plantes traitées

La deltaméthrine étant liposoluble, elle s'absorbe sur les parois du végétal (riche en lipides); elle résiste ainsi au lessivage, et comme sa tension de vapeur est faible, elle résiste également à l'évaporation; par la même, elle présente l'avantage de rester performante longtemps. Elle ne présente pas de caractère phytotoxique [30].

3/ - Action sur les insectes non visés

Des recherches entreprises en plein champ ont prouvé que la deltaméthrine ne portait pas atteinte à la production du miel et de pollen, et ne changeait pas l'évolution des ruches [30].

Des essais en laboratoires et en plein champ à court et moyen termes ont prouvé que la deltaméthrine est beaucoup plus active sur les ravageurs que sur les autres groupes d'arthropodes non ciblés. D'autres part, le traitement n'a pas de répercussion sur la faune de la parcelle [31].

4/ - Action sur les milieux aquatiques

Les premiers essais effectués en laboratoire ont prouvé que la deltaméthrine est toxique vis-à-vis des organismes aquatiques et en particulier des poissons. Sur les autres organismes aquatiques, des essais ont été menés et tendent à prouver qu'hormis les arthropodes qui accusent une sensibilité élevée, les batraciens et les mollusques sont beaucoup moins sensibles que les poissons à la deltaméthrine[32].

5/ - Action sur les animaux à sang chaud et l'homme

Pour qu'un produit phytosanitaire puisse être utilisé sur des cultures, il est nécessaires au préalable de vérifier qu'il possède une grande marge de sécurité pour les animaux à sang chaud et l'homme. On appelle coefficient de sécurité d'un pesticide, le rapport :

DL 50 sur Rat / DL 50 sur Mouche domestique.

Plus ce rapport est élevé, plus le pesticide a une marge de sécurité importante pour l'homme et les animaux à sang chaud.

Nous présentons dans le tableau n°V les coefficients de sécurité de différents pesticides, dont la deltaméthrine; nous pouvons y constater que sa toxicité vis-à-vis des animaux à sang chaud est faible comparativement à d'autres produits.

PRODUITS	D.L. 50 SUR MOUCHE DOMESTIQUE (mg/kg)	D.L. 50 SUR RAT (mg/kg)	COEFFICIENT DE SECURITE
*ORGANOCHLORES			
D.D.T	10,0	113	11,3
*ORGANOPHOSPHORES			
Malathion	56,0	2800	50,0
*CARBAMATES			
Diméthoate	0,9	500	555,5
*PYRETHRINOIDES			
Alphaméthrine	0,059	79	1339,0
Deltaméthrine	0,025	135	5400,0

Tableau n° V : coefficients de sécurité de différents pesticides [30].

En fait la deltaméthrine présente une marge de sécurité pour l'homme et les animaux à sang chaud qui est due à deux facteurs principaux :

- La peau des animaux à sang chaud possède une couche kératinisée que la deltaméthrine ne peut pénétrer, et elle ne peut pas alors se retrouver dans le sang.
- Les enzymes dégradent la deltaméthrine, par coupures de la liaison ester pour les estérases et les hydroxylases du foie jouent également un rôle dans la détoxification [33].

C/ - DÉGRADATION ET MÉTABOLISATION DE LA DELTAMÉTHRINE

L'étude de la dégradation et de la métabolisation de la deltaméthrine revient à chercher si elle pose des problèmes de rémanence dans les sols ou d'accumulation dans les tissus des êtres vivants.

1/ - Photodégradation de la deltaméthrine

La photolyse de la deltaméthrine sous radiations ultraviolettes dans différents solvants est le résultat de trois principales voies de dégradation :

- Rupture de la liaison 1 - 3 cyclopropane.
- Coupure de la liaison 0 - C benzylique.
- Rupture de la liaison ester.

Chaque produit primaire de la dégradation peut subir à son tour clivages et réarrangements. Vingt cinq produits de dégradation ont pu être identifiés et il a été démontré qu'ils étaient moins toxiques que la deltaméthrine [34].

2/ - Dégradation de la deltaméthrine dans les sols

La dégradation survient dans un premier temps par hydrolyse de la liaison ester, suivie dans un second temps par la formation de produits d'oxydation. Un des produits de la dégradation de la deltaméthrine a pu être identifié comme étant l'acide 3 (2,2 - Dibromovinyl) 2,2 - diméthylcyclopropane carboxylique [35].

La population microbienne croît d'autant que la deltaméthrine se dégrade, ce qui signifie qu'elle joue un rôle dans sa biodégradation [35].

3/ - Métabolisation de la deltaméthrine chez les animaux à sang chaud

3.1/ - Test de biodégradation in-vitro chez la souris

Cette biodégradation est suivie par le marquage radioactif au carbone 14 sur le carbone porteur de deux atomes de brome, sur le carbone benzylique et sur le carbone du groupe nitrile. Les résultats obtenus évaluent à :

- 28 % métabolisé par les estérases.
- 41 % métabolisé par les oxydases.
- 75 % métabolisé par les deux types d'enzymes [36].

Cependant, les enzymes microsomiques du foie des souris métabolisent moins rapidement la deltaméthrine que les autres pyréthriinoïdes [37].

3.2/ - Tests de biodégradation in-vivo chez le rat et la souris

Ces tests se font par administration par voie orale de deltaméthrine marquée au carbone 14, dans les positions indiquées plus haut, à des rats. On a constaté que l'élimination de la deltaméthrine est rapide: elle atteint 99 % au bout de huit jours [34].

Les métabolites identifiés conduisent à deux voies principales de dégradation chez les rats, la première étant l'hydrolyse de l'ester et la seconde étant l'hydroxylation du sommet aromatique 4', et à trois processus secondaires, hydroxylation en 5 et 2', et sur le méthyle trans [38].

On a observé les mêmes résultats chez la souris à part qu'il y a moins de deltaméthrine excrétée sans dégradation et plus de produits hydroxylés en 5 et 2' et sur le méthyle trans [38].

Enfin, la deltaméthrine semble agir sur le cerveau de la souris même à très faibles doses [38].

4/ - Métabolisation de la deltaméthrine chez les insectes

L'étude du métabolisme et de la dégradation de la deltaméthrine chez les mouches domestiques par incubation ou en nourrissant les larves a conduit dans un premier temps à observer une débromuration (qui ne peut-être un processus enzymatique étant donné sa rapidité), puis dans un second temps une hydrolyse par les estérases. Cependant, l'activité insecticide est conservée par l'atteinte du système nerveux qui provoque la mort de l'insecte [39].

5/ - Métabolisation de la deltaméthrine chez les plantes

Des études menées sur des feuilles de plantes de coton poussant en plein champ ou sous - serres, ont montré une superposition de deux processus de dégradation; le premier étant la photolyse par la lumière et le second étant un processus similaire à la métabolisation observée chez le rat et la souris. Cette métabolisation n'entraîne pas de racémisation du centre benzylique et donc il n'y a pas perte de 50 % de l'activité insecticide [40].

D/ - LES RESIDUS DE LA DELTAMETHRINE

1/ - Résidus de deltaméthrine observés pour différents substrats

Des études portant sur la persistance et la distribution de la deltaméthrine chez les oiseaux ont été réalisées.

Ainsi, chez les poules pondeuses, les résidus ont été mesurés pendant quatorze jours après une administration orale de 10 mg/kg de poids corporel. Les résidus n'excédaient pas 0,1 p.p.m. après quatorze jours dans les graisses, le sang, les reins, le foie, les ovaires et la peau, exceptés dans le coeur où les niveaux restaient très élevés, environ 4 p.p.m. [41].

Des études sur les plantes cultivées ont aussi été réalisées dans ce cadre. Ainsi, sur les laitues, pour des traitements à 12,5 g m.a./ha et 25 m.a./ha, (c'est à dire 12,5g et 25g de la matière active par hectare), on observe des résidus atteignant respectivement 26% et 56%, trois semaines après les traitements. Les auteurs concluent à une persistance du produit [42].

Enfin, toutes les recherches s'accordent à conclure, que pour les denrées consommables, le niveau des résidus de la deltaméthrine est fortement diminué par le lavage, l'épluchage, la cuisson et la transformation industrielle [43].

2/ Normes admissibles pour les résidus de deltaméthrine dans les aliments

La dose journalière admissible qui a été adoptée pour la deltaméthrine, par l'O.M.S. et la F.A.O. est de 0,01 mg/kg/jour, et de 1,5 mg/kg pour la tolérance maximale théorique qui assure la sécurité du consommateur.

Nous présentons quelques L.M.R. adoptées par ces instances dans le tableau n° VI [44].

Aliment	L.M.R. (en p.p.m.)
végétaux à tubercules	0,10
lait	0,01
grains de céréales	1,00
tomate	0,20
thé	10,00
lentilles secs	1,00

Tableau n° VI : L.M.R. de deltaméthrine dans quelques aliments [44].

3/ - Dosage des résidus de la deltaméthrine

Différentes méthodes, pour doser les résidus de deltaméthrine, sont décrites dans la littérature. Elles comprennent toutes une extraction, une purification par partition liquide - liquide suivie d'une chromatographie sur colonne et une quantification par C.P.G./D.C. E. dans la majorité des cas.

3.1/ - Extraction, purification des résidus de deltaméthrine

Dans les végétaux, HASCOET et ANDRE [45] ont proposé une méthode par laquelle les résidus sont extraits par de l'hexane. La purification est réalisée soit par chromatographie sur colonne ou par partition liquide - liquide. Une méthode similaire a été décrite par PANSU et Coll [46], dans laquelle l'étape de partition liquide est éliminée.

Pour les grains de coton, TILJIER et DEVAUX [47] ont développé une méthode où l'échantillon extrait est purifié par chromatographie de perméation de gel.

Dans le sol, la méthode décrite par HASCOET et ANDRE [45] est basée sur une extraction de la deltaméthrine avec de l'acétone, une partition liquide - liquide dans un mélange eau - hexane, et une chromatographie sur colonne de Florisil.

Dans le lait, la méthode développée par AKHTAR [48], comprend une extraction avec de l'hexane, une partition liquide - liquide avec de l'acétonitrile, suivie d'une purification sur une micro-colonne de Florisil.

Dans les fruits et les végétaux, BAKER et BOTTOMLEY [13], utilisent une extraction avec un mélange hexane - acétone, suivi d'une partition liquide - liquide avec de l'eau, et une purification sur colonne de gel de silice activé.

Dans les laitues, DEJONCKEERE et Coll [42] extraient les résidus par un mélange benzène de pétrole - acétone, et une partition liquide - liquide avec de l'eau.

Dans les fruits, BOLYGO et ZAKAR [49], réalisent l'extraction avec de l'acétone suivie d'une partition liquide - liquide dans le dichlorométhane. L'extrait est purifié sur colonne de charbon activé.

Dans les agrumes, MESTRES et Coll [50], utilisent l'acétonitrile pour l'extraction et un double partage avec l'éther de pétrole suivi d'une chromatographie sur FLORISIL pour la purification.

Dans les choux-fleurs, PARM PAL SINGH et Coll [51], utilisent l'acétonitrile pour l'extraction, une solution de chlorure de sodium et d'hexane pour une partition liquide-liquide. La purification est réalisée sur une colonne de gel de silice activé.

Dans le lait et le beurre, VENANT et Coll [09], utilisent un mélange éther de pétrole - acétone pour l'extraction, suivi d'une partition avec un mélange acétonitrile - dichlorométhane et une centrifugation à 10°C. L'extrait est purifié par chromatographie de perméation de gel.

3.2/ - Analyses des extraits purifiés

Etant donné les faibles quantités de deltaméthrine dans les résidus, on peut comprendre que les chercheurs aient eu le souci de rechercher des méthodes de dosage très performantes et hautement sensibles. C'est pour cela que la C.C.M. est surtout appliquée à l'identification. Elle a été en particulier utilisée pour identifier les métabolites de deltaméthrine [52],[53],[54].

3.2.1/ - Chromatographie en phase gazeuse [09],[42],[45],[46],[47],[48],[49],[50],[51],[55]

La C.P.G. est la plus largement utilisée pour le dosage des résidus de deltaméthrine, car la présence des deux atomes de brome dans la molécule permet une quantification à des seuils très bas par un détecteur à capture d'électrons.

Les extraits purifiés sont injectés en général directement, par deux méthodes :

- soit après trans - estérification permettant d'abaisser le point d'ébullition de la molécule et ceci grâce à une solution de potasse méthanolique. Les colonnes préconisées sont alors celles en verre garnies de support Gas Chrom Q 100/200 mesh imprégné de 5 % de phase stationnaire SE 30 [55].

- soit directement en utilisant des colonnes remplies de OV 210 [42],[46] ou 225 [51],[45], OV 101 à 3 % sur des supports classiques tels que le chromosorb [47],[50], ou SE 30 à 3% [09],[48],[49]. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont en général élevées, supérieures à 200 C, parfois proches de 300°C, et la température du four est aux environs de 150°C: le gaz vecteur est en général de l'azote, cependant de récentes études tendent à démontrer que le mélange argon - méthane (95:5) doublait la sensibilité du détecteur [42]. Le seuil de détection par cette méthode est de l'ordre du p.p.b..

3.2.2/ - Chromatographie liquide de haute performance [13],[56],[57]

Jusque là, la chromatographie liquide de haute performance a été peu utilisée dans l'analyse quantitative des résidus de la deltaméthrine. Les méthodes publiées concernaient plutôt la détermination de la deltaméthrine dans les formulations et la matière technique.

Ainsi pour une analyse en chromatographie de partage classique ("normal phase chromatography"), avec une colonne Micropak S.I 10, le solvant d'élution préconisé est un mélange de solvants purs : hexane - pentane - éther diéthylique (280 : 113 : 7) V/V , pour une colonne Lichrosorb S.I 60, le solvant préconisé est le mélange : N-hexane-éther diisopropylique (93 : 7) V/V [56].

Par contre, pour une analyse en chromatographie de partage à polarité de phases inversée , avec une colonne Lichrosorb R.P 8, le solvant d'élution recommandé est le mélange : acétonitrile- acide sulfurique à 1% (70 : 30) V/V [56].

Le détecteur utilisé est un Spectrophotomètre ultraviolet , et on se place à une longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de la deltaméthrine, dans le solvant choisi. Les temps de rétention n'excèdent pas dix minutes.

Pour l'analyse quantitative, BAKER et BOTTOMLEY [13] utilisent une colonne SPHERISORB O.D.S. et une phase mobile méthanol - eau (80 : 20) V/V pour doser les résidus de pyréthrinoïdes dont la deltaméthrine dans les fruits et végétaux, à une longueur d'onde de 206 nm. Le seuil de détection pour la deltaméthrine était de 0,05 p.p.m. .R. HADDAD et Coll [57], utilisent une colonne Waters Novapack C₁₈, une phase mobile: acétonitrile - eau (75 : 25) V/V, à une longueur d'onde de 225 nm. Le seuil de détection est alors de 0,04 p.p.m..

3.2.3/ - Colorimétrie [07]

A.I. ABDEL ALL et Coll [07] ont dosé les résidus de deltaméthrine par colorimétrie à 530 nm, grâce à une méthode spécifique aux thiocyanates et cyanures.

E / - CONCLUSION

La littérature contient plusieurs méthodes d'extraction - purification des résidus de deltaméthrine dans différents aliments, facilitant largement le travail de recherche dans ce domaine.

Par contre, la quantification de ces résidus n'y est abordée généralement que par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à capture d'électrons. Son avantage est le seuil de détection très bas, mais son inconvénient est qu'il exige l'utilisation de produits chimiques très purs.

PARTIE
EXPERIMENTALE

INTRODUCTION

Comme nous l'avons vu précédemment, le dosage des résidus de pesticides dans les aliments comporte deux étapes :

- l'extraction et purification des résidus,
- l'analyse des résidus.

Comme déjà signalé dans la partie bibliographique, plusieurs méthodes d'extraction et purification de la deltaméthrine ainsi que leur analyse ont été décrites dans la littérature. Nous nous sommes proposés de reproduire celles qui nous ont semblé les plus adaptées à notre étude. Nous avons en effet constaté une description souvent incomplète du processus expérimental d'une part dans la littérature correspondante, et d'autre part la difficulté à disposer du matériel décrit.

Dans cette partie expérimentale, les essais de mise au point de méthodes d'analyse de la deltaméthrine ainsi qu'une adaptation d'une méthode d'extraction et purification tirée de la littérature [13] sont décrits et ont été appliqués aux trois aliments choisis, à savoir le blé, la tomate et la pomme de terre.

Nous présentons aussi les résultats d'une étude effectuée sur la tomate cultivée sous serre, ainsi que les résultats d'analyses effectuées sur des échantillons de blé et de pomme de terre d'importation.

I/ - MISE AU POINT DE LA METHODE D'ANALYSE DE LA DELTAMETHRINE PAR COLORIMETRIE

Nous avons essayé de reproduire la méthode rapportée par la littérature [07]. Le dosage des résidus de deltaméthrine dans la présente étude est réalisé par la méthode colorimétrique du groupe cyano; elle est spécifique aux thiocyanates et cyanures [58].

1/ - Principe

La méthode est basée sur la cassure de la liaison ester du pyréthrianoïde afin de former un sel de sodium de la partie acide et un dérivé cyanohydrine de la partie alcool qui se décompose en cyanure de sodium.

Le cyanure peut alors être dosé par la procédure d'ALDRIDGE [59] qui est basée sur la conversion du cyanure en bromure cyanogène, suivie d'une réaction de ce dernier avec la solution chromogénique benzidine - pyridine pour former une couleur rouge avec un maximum d'absorption à 530 nm.

2/ - Courbe d'étalonnage

2.1/ - Matériel et réactifs

Pour l'établissement de la courbe d'étalonnage par la présente méthode nous utilisons le matériel et les réactifs suivants:

- Bain-marie.
- Spectrophotomètre UVIKON 860.
- Agitateur-rotatif.
- Verrerie courante de laboratoire.
- Deltaméthrine standard à 98% de pureté (ROUSSEL-UCLAF).
- Hexane pour résidus de pesticides (MERCK).
- Solution d'acide chlorhydrique 6N et 3N (solution concentrée à 37% MERCK)
- Solution d'hydroxyde de sodium 6N (soude en pastilles MERCK).
- Eau bromée saturée (LABOSI).
- Solution de trioxyde d'arsenic 2% (MERCK).
- Pyridine pour analyse (MERCK).
- Benzidine chlorhydrate (MERCK).

* Préparation des solutions

- Solution de pyridine : on mélange 59 ml de pyridine avec 21 ml d'eau distillée et 20 ml d'HCl 6N.
- Solution de benzidine : on dissout 2,5 g de chlorhydrate de benzidine dans 48 ml d'eau distillée et 2 ml d'HCl concentré à 37% (préparation fraîche du jour même).
- Solution chromogénique benzidine-pyridine : on mélange 8 ml de la solution de benzidine avec 27 ml de la solution de pyridine, on ajuste à 50 ml avec de l'eau distillée (à préparer juste avant utilisation).

2.2/ - Procédure colorimétrique spécifique aux thiocyanates et cyanures [58]

On prend 1 ml d'une solution contenant de la deltaméthrine dans un tube à essai; le solvant est évaporé à sec en utilisant un courant d'azote. Au résidu dans le tube, on ajoute 1 ml d'HCl 6N et on chauffe au bain-marie à 100°C pendant 10 minutes. On refroidit la solution dans un bain de glace, on ajoute 1,5 ml de NaOH 6N et on mélange bien. 5 minutes après on acidifie avec 1,5 ml d'HCl 3N, on ajoute alors 4 gouttes d'eau bromée et on mélange. 3 minutes plus tard on détruit l'excès de bromure avec 4 gouttes de la solution de trioxyde d'arsenic et on dilue à 5 ml avec de l'eau distillée. On ajoute alors 5 ml de la solution chromogénique benzidine-pyridine fraîchement préparée, on brasse doucement et on laisse la couleur se développer pendant 15 minutes. La solution est filtrée sur papier filtre et on détermine son absorbance à 530 nm, en utilisant une solution de blanc, préparée dans les mêmes conditions et avec les mêmes réactifs, mais sans insecticide.

RESUME :

PROCEDURE COLORIMETRIQUE SPECIFIQUE AUX THIOCYANATES ET CYANURES

1 ml de la solution contenant
de la deltaméthrine

- * Evaporation à sec du solvant par un courant d'azote.
- * 1 ml d'HCl 6 N.
- * Bain-marie à 100°C pendant 10 minutes.
- * Refroidir dans un bain de glace.
- * 1,5 ml de NaOH 6 N.
- * Bien mélanger.
- * 5 minutes plus tard, 1,5 ml d'HCl 3 N.
- * 4 gouttes d'eau bromée.
- * Mélanger.
- * 3 minutes plus tard, 4 gouttes de la solution de trioxyde d'arsenic.
- * Ajuster à 5 ml avec de l'eau.
- * 5 ml de la solution chromogénique.
- * Brasser doucement.
- * Laisser la couleur se développer pendant 15 minutes.
- * Filtrer sur papier filtre.
- * Lire l'absorbance à 530 nm.

2.3/ - Limite de détection

La limite de détection de la méthode a été trouvée de 7,5 $\mu\text{g/ml}$ de deltaméthrine dans le solvant (après 10 essais).

2.4/ - Domaine de linéarité

Le domaine de linéarité de la méthode a été trouvé compris entre 10 $\mu\text{g/ml}$ et 120 $\mu\text{g/ml}$, comme l'indique la figure n° 2.

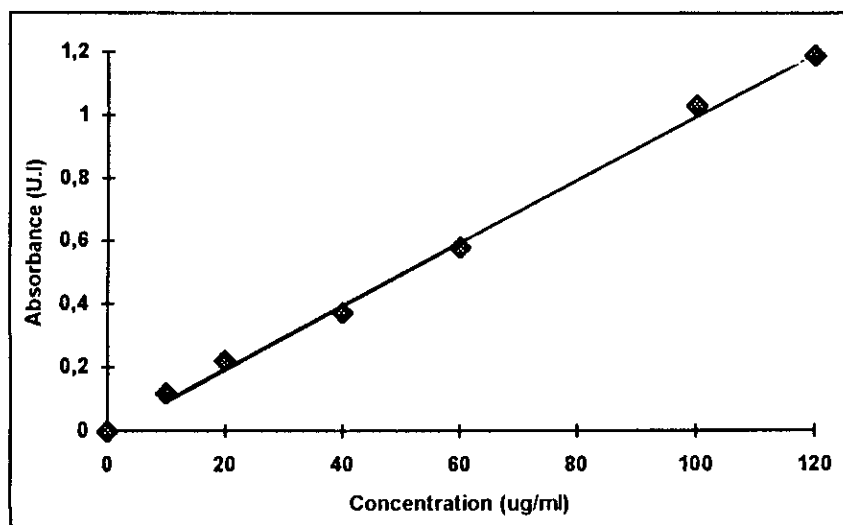


Figure n° 2 : domaine de linéarité de la méthode de dosage de la deltaméthrine par colorimétrie.

II/ - MISE AU POINT D'UNE METHODE D' ANALYSE DE LA DELTAMETHRINE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

Le dosage de la deltaméthrine par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à capture d'électron a été très largement étudié dans la littérature comme nous l'avons vu précédemment. Nous avons essayé de mettre au point une méthode en tenant compte des différentes méthodes décrites et du matériel dont nous disposions.

1/ - Matériel et réactifs

- Chromatographe en phase gazeuse PU 4500 (PYE UNICAM) muni d'un détecteur à capture d'électron contenant une source radioactive de 10 millicurie (Ni 63).
- Intégrateur-Calculateur L.C.I. 100 (PERKIN - ELMER).
- Gaz Vecteur: Azote acquis auprès de l'Entreprise Nationale des Gaz Industriels (degré de pureté inconnu).
- Seringue en Verre de 5 μ l (HAMILTON).
- Hexane pour résidus de pesticides (MERCK).
- Deltaméthrine Standard à 98 % de pureté (ROUSSEL - UCLAF).
- Colonne en Verre de 1,5 m, 4 mm de diamètre interne remplie d'une phase stationnaire SE 30, 3 % sur diatomée CQ 100 - 120 mesh (PYE UNICAM).

2/ - Préparation de l'appareil

Pour préparer le chromatographe, nous avons effectué les opérations suivantes :

- Montage de la colonne.
- Mise en marche de l'appareil.
- Réglage du débit du gaz vecteur (azote) à 50 ml/min.
- Vérification de l'étanchéité.
- Réglage des températures :
 - * Température du détecteur : 300°C
 - * Température de la colonne : 270°C
 - * Température de l'injecteur : 275°C
- Réglage du courant du détecteur à 5 et du courant de fuite à 12.

Ce dernier point est le plus important durant cette phase car il permet le contrôle d'une éventuelle contamination du détecteur et si elle existe, l'éliminer par l'opération de purge . Il permet aussi le réglage correct du courant de base sur l'amplificateur [65].

3/ - Chromatogramme d'essai

Après ces réglages, nous avons fait 2 injections d'essai, l'une de solvant pur (hexane pour résidus de pesticides) et l'autre d'une solution de 2 µg/ml de deltaméthrine, dans les conditions opératoires ci dessus . Les chromatogrammes obtenus sont présentés sur la figure n° 3.

Nous constatons qu'avec les conditions opératoires utilisées, le pic de la deltaméthrine présente de bonnes caractéristiques chromatographiques à savoir : une allure gaussienne, une bonne résolution, un temps de rétention de 9,86 minutes (sensiblement égal à celui obtenu par certains auteurs notamment VENANT et Coll [09]) et surtout une hauteur de pic significative pour la quantité injectée (6 ng).

Cependant, nous avons constaté l'apparition d'un bruit de fond de plus en plus élevé; signe d'une contamination du détecteur. Nous avons alors tenté d'utiliser la méthode de décontamination préconisée dans la manuel technique de l'appareil [65]. Mais le niveau de contamination était tel que cette méthode s'est avérée inefficace, malgré plusieurs tentatives. L'inconvénient majeur d'une telle contamination est l'impossibilité d'atteindre des seuils de détection comparables à ceux décrits par la littérature. Nous avons donc été obligé d'abandonner cette méthode et d'essayer de développer l'analyse de la deltaméthrine par C.L.H.P..

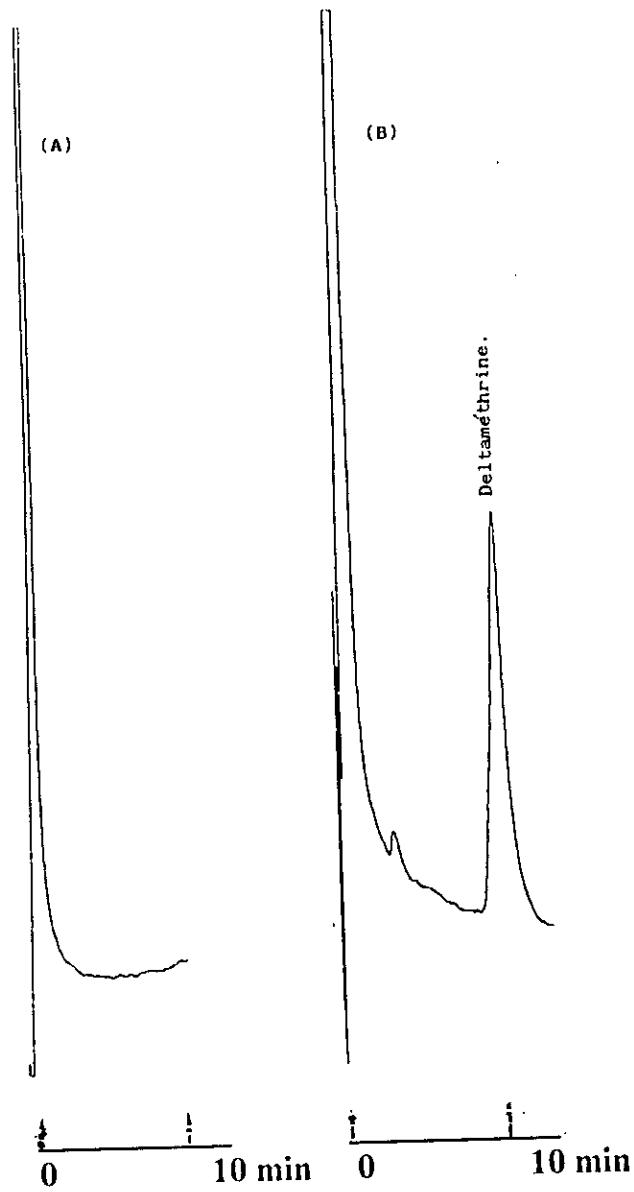


Figure n° 3 : chromatogrammes d'hexane pur (A) et d'une solution de 2 µg/ml de deltaméthrine dans l'hexane (B).

III/ - MISE AU POINT DE METHODES DE DOSAGE DE LA DELTAMETHRINE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE DE HAUTE PERFORMANCE

La rareté des références bibliographiques concernant l'analyse de la deltaméthrine par C.L.H.P., nous a poussé à développer cette partie en mettant au point des modes opératoires qui tiennent compte du matériel dont nous disposons au laboratoire.

A/ - DOSAGE DE LA DELTAMETHRINE PAR CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE CLASSIQUE

1/ - Matériel et réactifs

- Chromatographe liquide de haute performance de marque GILSON composé de :
 - * Une pompe monopiston (modèle 302).
 - * Un module manométrique (modèle 802) dont la pression maximale est de 600 bars.
 - * Un injecteur RHEODINE 7125 muni d'une boucle d'injection de 20 μ l.
 - * Un détecteur spectrophotométrique U.V. / Visible (type HOLOCHROME).
- Colonne SPHERISORB 5 CN (O.S.I.) de 25 cm de longueur et 4,6 mm de diamètre interne (diamètre des particules = 5 μ m).
- Microseringue en verre HAMILTON.
- Enregistreur GILSON N1
- Intégrateur-calculateur L.C.I. 100 (PERKIN - ELMER)
- Hexane pour analyse (MERCK).
- Ethanol absolu pour analyse (MERCK).
- Deltaméthrine standard à 98 % de pureté (ROUSSEL - UCLAF).
- Spectrophotomètre SECOMAM 1000.

2/ - Spectre ultraviolet de la deltaméthrine dans l'hexane

Pour déterminer le maximum d'absorbance de la deltaméthrine dans l'hexane pur, nous avons analysé une solution de 1 mg/ml par un spectrophotomètre SECOMAM 1000. Le spectre ultraviolet est présenté sur la figure n° 4.

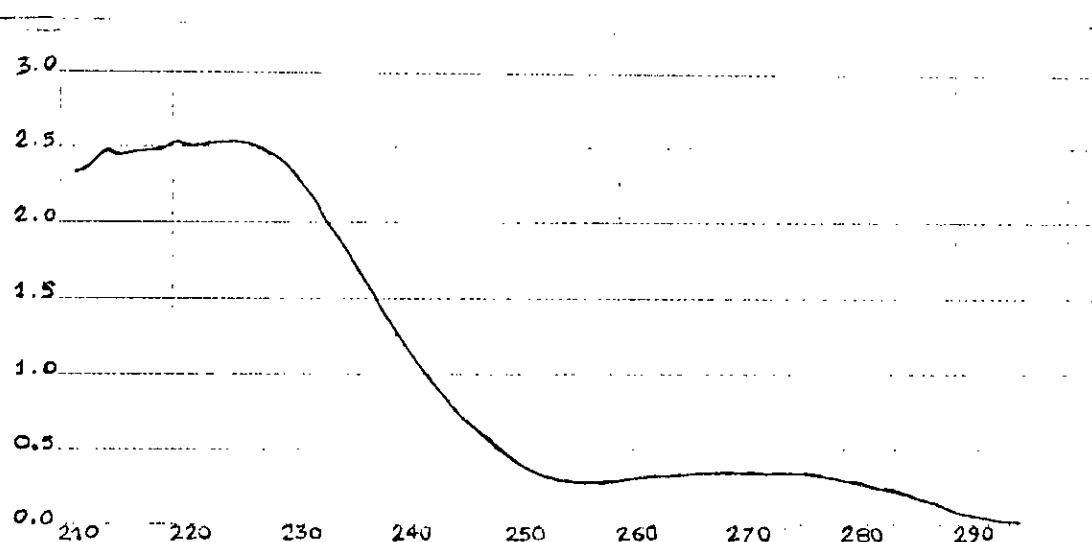


Figure n° 4 : spectre U.V. de la deltaméthrine dans l'hexane.

Nous pouvons constater sur cette figure que la deltaméthrine présente une large bande d'absorbance entre 210 et 255 nm avec un maximum d'absorbance à 224 nm.

3/ - Détermination de la composition de la phase mobile

En fixant la longueur d'onde à 224 nm et arbitrairement la vitesse de la phase mobile à 1 ml/min, nous avons observé le comportement du pic chromatographique de la deltaméthrine en fonction de la composition de la phase mobile en solvant apolaire (hexane) et du modificateur polaire (l'éthanol).

On a remarqué qu'avec une phase mobile ne contenant que de l'hexane, la deltaméthrine était peu retenue et son pic mal résolu. Une composition de phase mobile contenant 2 % en volume d'éthanol dans l'hexane donnait une bonne résolution et un temps de rétention convenable (autour de 5 minutes). Nous avons alors retenu cette composition pour la suite du travail.

4/ - Détermination du débit optimal de la phase mobile

Une fois la longueur d'onde fixée à 224 nm et la composition de la phase mobile à (98:2) V/V en hexane - éthanol, nous avons fait varier le débit de cette dernière afin de déterminer sa vitesse optimale.

Ces opérations nous ont permis de calculer certaines grandeurs fondamentales caractéristiques d'une séparation, à savoir, le nombre de plateaux théoriques N, et la hauteur équivalente à un plateau théorique (H.E.P.T. ou H); les résultats sont consignés dans le tableau n° VII, d'après les formules suivantes [60]:

$$N = 5,54 \times (t_r / \sigma) \quad (I)$$

$$H = L / N \quad (II)$$

où :

t_r : temps de rétention de l'espèce considérée en minute.

σ : largeur du pic à mi-hauteur en minute.

L : longueur de la colonne en millimètre

D (ml/min)	t_r (min)	σ (min)	N	H (mm)
0,70	6,03	1,2	14002	0,0179
0,80	5,30	1,0	15576	0,0161
0,90	4,74	0,9	15381	0,0163
1,00	4,26	0,9	12423	0,0201
1,10	3,89	0,9	10359	0,0241
1,20	3,57	0,9	8725	0,0287

Tableau n°VII : nombre de plateaux théoriques (N) et la H.E.P.T (H) en fonction du débit (D) de la phase mobile hexane-éthanol (98:2) V/V.

Le tracé de la courbe $H = f (D)$ (figure n° 5) nous montre l'évolution de la H.E.P.T. en fonction du débit de la phase mobile. C'est le profil d'une courbe de VAN DEEMTER (une branche d'hyperbole) qui rend bien compte d'un minimum de la H.E.P.T., c'est à dire d'une valeur du débit de la phase mobile pour lequel l'efficacité de la colonne est maximale [60]. On voit que le débit optimal se trouve autour de 0,85 ml/min.

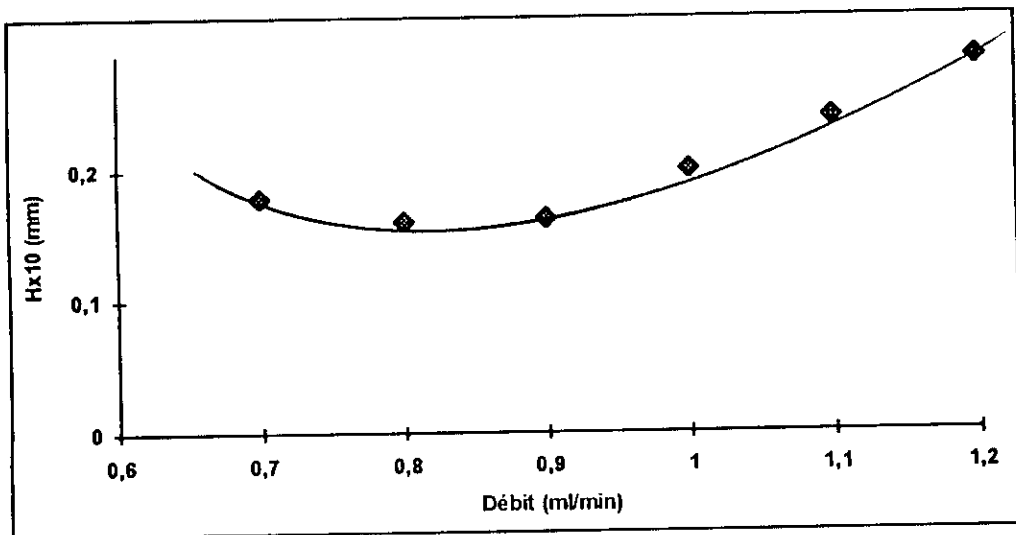


Figure n° 5 : représentation de la H.E.P.T. en fonction du débit de la phase mobile.

Le chromatogramme d'une solution de 1 $\mu\text{g/ml}$ de deltaméthrine, obtenu dans les conditions fixées précédemment (phase mobile : hexane- éthanol (98:2) V/V, à un débit de 0,85 ml/min, longueur d'onde du détecteur : 224 nm) est représenté sur la figure n° 6 .

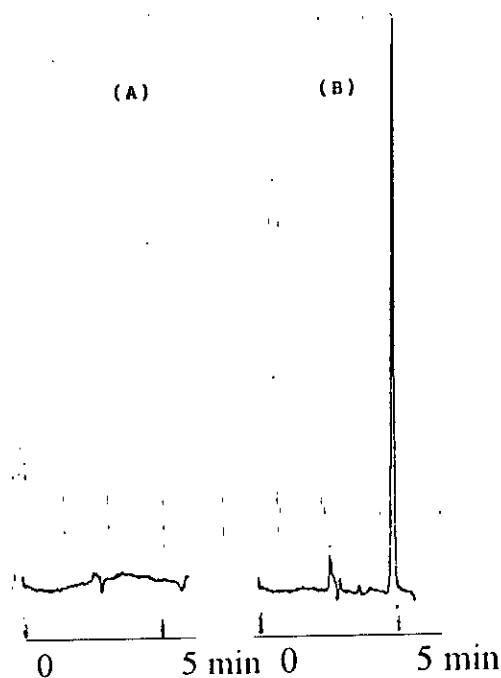


Figure n° 6 : chromatogrammes de l'hexane pur (A) et d'une solution de 1 $\mu\text{g/ml}$ de deltaméthrine (B).

5/ - Quantité minimale détectable

La sensibilité du détecteur, pour le soluté envisagé, exprimée en général en terme de concentration, est définie comme la concentration minimum d'échantillon qui, traversant la cellule du détecteur conduit à un signal égal à deux fois la valeur du bruit de fond (au niveau de confiance de 90 %) [60].

Nous avons trouvé dans ces conditions que la sensibilité du détecteur pour la deltaméthrine est de $0,01\mu\text{g/ml}$; ce qui conduit à une quantité minimale détectable de $0,2\text{ ng}$ (figure n° 7).

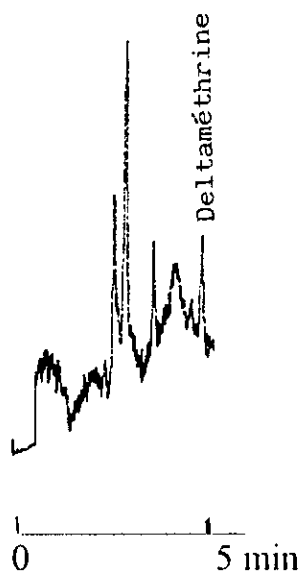


Figure n° 7 : limite de détection de la deltaméthrine par C.L.H.P..

6/ - Domaine de linéarité par C.L.H.P.

La relation entre la réponse de détecteur et la concentration du soluté est linéaire au moins dans un certain domaine de concentration qu'il est nécessaire de connaître pour éviter que le détecteur n'entraîne une perte de résolution [60].

A partir de la concentration minimale détectée, nous avons procédé à la recherche du domaine de linéarité de la concentration de la deltaméthrine en étudiant la hauteur du pic donnée par l'intégrateur. Dans un souci de reproductibilité, nous avons répété 3 fois l'injection pour chaque concentration.

La figure n° 8 illustre la linéarité de la réponse obtenue. Nous pouvons constater qu'entre 0,4 ng et 40 ng nous avons une bonne linéarité.

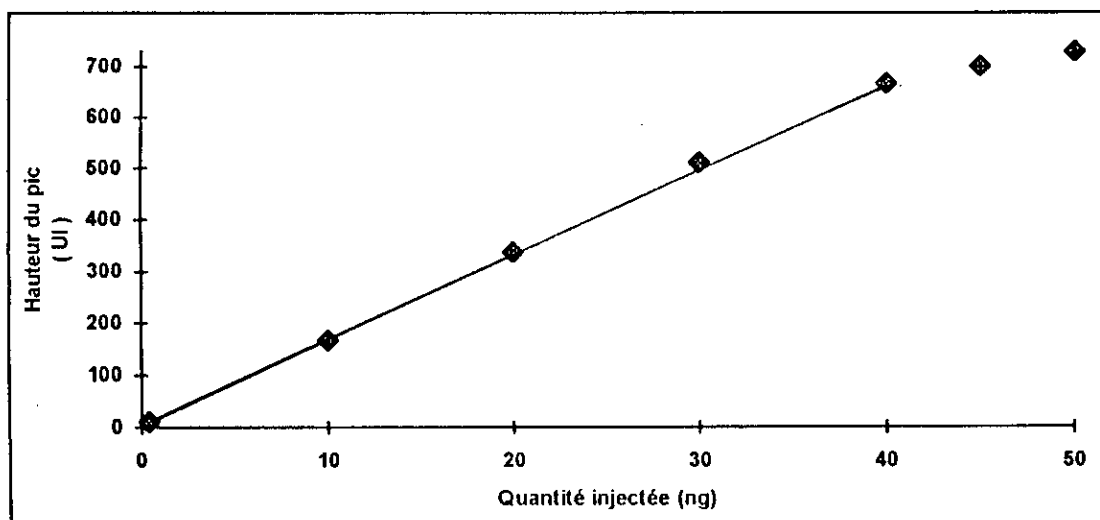


Figure n° 8 : domaine de linéarité de la méthode de dosage de la deltaméthrine par C.L.H.P..

B/ - DOSAGE DE LA DELTAMETHRINE PAR CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE A POLARITE DE PHASES INVERSEE

a / - Première méthode

1/ - Matériel et réactifs

Le même matériel que précédemment est utilisé pour cette méthode, à part la colonne chromatographique et les solvants d'élution :

- Colonne ULTRASPHERE ODS 5 μm , de 25 cm de long et de 4,6 mm de diamètre interne (BECKMAN).
- Méthanol pour chromatographie (MERCK).
- Eau bidistillée obtenue au laboratoire sur un appareil FISONs.

2/ - Spectre ultraviolet (U.V.) de la deltaméthrine dans le méthanol

L'enregistrement du spectre ultraviolet d'une solution de 1 mg/ml de deltaméthrine dans le méthanol sur le spectrophotomètre SECOMAM 1000 montre une large bande d'absorption avec un maximum d'absorbance à 220 nm comme l'indique la figure n°9.

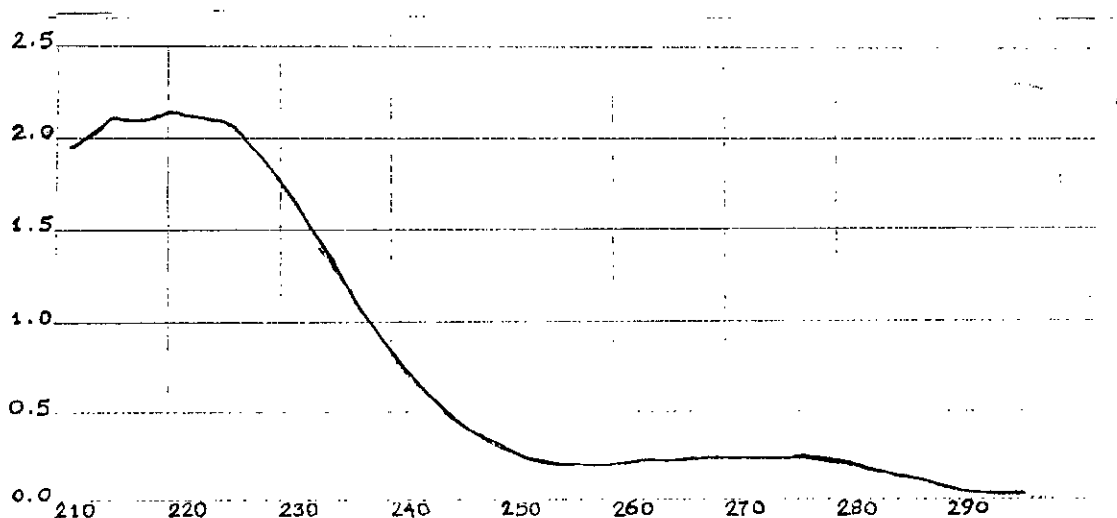


Figure n° 9 : spectre U.V. de la deltaméthrine dans le méthanol.

3/ - Régénération de la colonne

Afin de travailler dans les meilleures conditions, nous avons régénéré la colonne ULTRASPHERE ODS 5 μ m avant son utilisation, selon la méthode décrite par D.J. RUNSER [61]:

- Débit de la phase mobile fixée à 1 ml/min.
- Lavage avec 75 ml d'eau distillée et injection de 200 μ l de D.M.S.O. en 4 temps.
- Lavage avec 75 ml de méthanol.
- Lavage avec 75 ml de chloroforme.
- Lavage avec 75 ml de méthanol.

Nous avons alors assumé que la colonne était prête à l'emploi.

4/ - Détermination de la composition de la phase mobile

Dans la référence bibliographique dont nous disposons [13] et pour une colonne équivalente, la composition de la phase mobile utilisée était (80:20) V/V en méthanol-eau (pour doser un mélange de pesticides dont la deltaméthrine).

Nous nous sommes donc proposés de reproduire cette composition. Mais nous avons obtenu un temps de rétention de la deltaméthrine d'environ 17 minutes. Nous avons essayé de voir s'il était possible d'abaisser ce temps de rétention, en jouant sur la composition de la phase mobile. Nous avons réussi à le ramener autour de 5 minutes avec une composition de (95:05) V/V en méthanol - eau, tout en gardant une bonne résolution du pic de la deltaméthrine.

Pendant ces essais, il nous a été de plus en plus difficile de stabiliser la ligne de base du chromatogramme à la longueur d'onde choisie : 220 nm; nous l'avons alors fixé à 225 nm.

5/ - Détermination du débit optimal de la phase mobile

Une fois la longueur d'onde fixée à 225 nm, et la composition de la phase mobile fixée à (95:05) V/V en méthanol - eau, nous avons fait varier le débit de cette dernière afin de déterminer le débit optimal. Ces opérations nous ont permis de calculer le nombre de plateaux théoriques N et la H.E.P.T. ou H, nécessaires pour une telle détermination. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau n° VIII.

D (ml/min)	t _r (min)	σ (min)	N	H (mm)
0,75	6,00	0,7	437	0,57
0,85	5,59	0,5	692	0,36
0,95	4,94	0,4	845	0,30
1,00	4,70	0,4	757	0,33
1,10	4,29	0,4	694	0,36

Tableau n° VIII : nombre de plateaux théoriques N et hauteur équivalente à un plateau théorique (H) en fonction de D le débit de la phase mobile : méthanol - eau (95:05)V/V.

Le tracé de la courbe $H = f(D)$ (figure n° 10), nous montre l'évolution de la H.E.P.T. en fonction du débit de la phase mobile et que le débit optimal se trouve proche de la valeur de 1 ml/min.

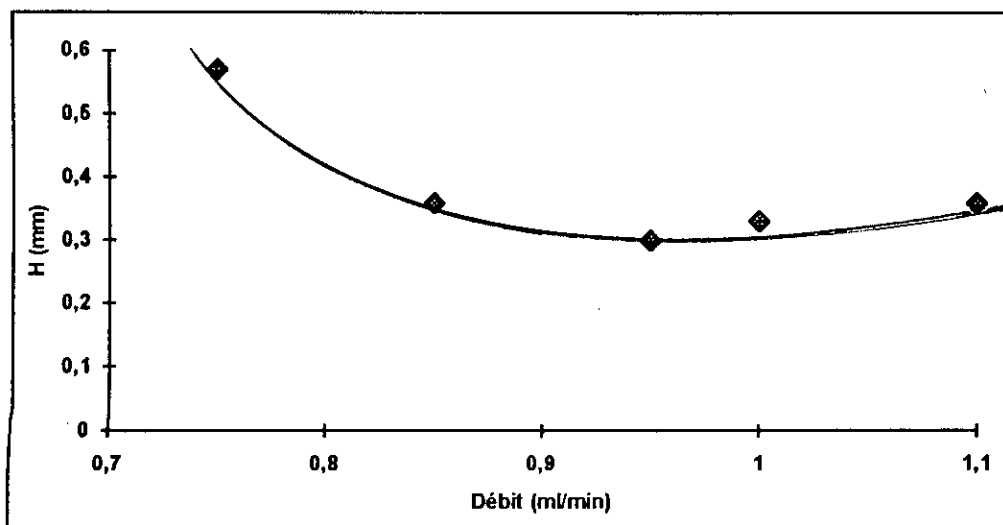


Figure n° 10 : représentation de la H.E.P.T. en fonction du débit de la phase mobile.

Le chromatogramme d'une solution de $1\mu\text{g/ml}$ de deltaméthrine, dans les conditions fixées, à savoir: phase mobile, méthanol - eau (95 : 05) V/V, à un débit de 1 ml/min, longueur d'onde de détection: 225 nm, est représenté sur la figure n° 11.

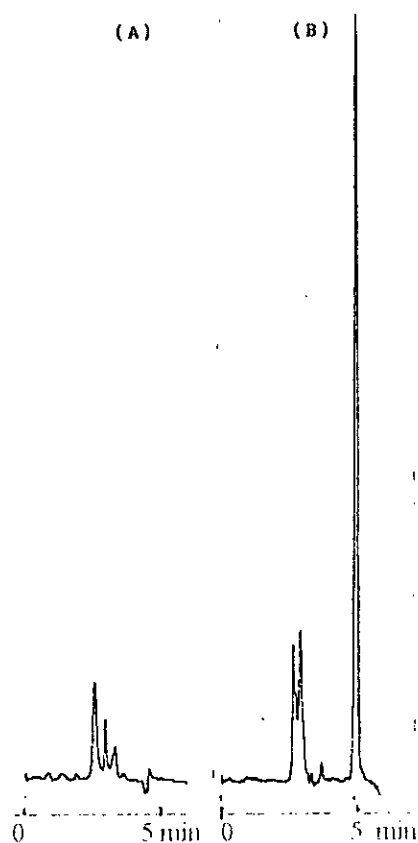


Figure n° 11 : chromatogrammes de méthanol pur (A) et d'une solution de $1\mu\text{g/ml}$ de deltaméthrine (B).

6/ - Quantité minimale détectable

Nous avons trouvé que par la présente méthode, la sensibilité du détecteur pour la deltaméthrine est de $0,02 \mu\text{g/ml}$, ce qui conduit à une quantité minimale détectable de $0,4 \text{ ng}$, à un niveau de confiance de 90% (figure n° 12).

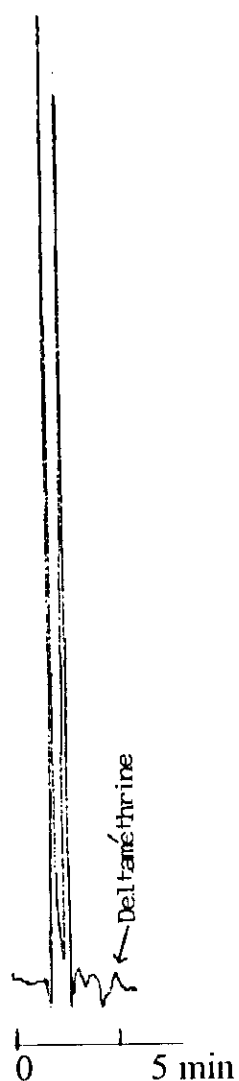


Figure n° 12 : limite de détection de la méthode de dosage de la deltaméthrine par C.L.H.P..

7/ - Domaine de linéarité

Pour établir le domaine de linéarité de la réponse du détecteur pour la deltaméthrine par la présente méthode, nous avons procédé de la même manière que pour la précédente. La figure n° 13 illustre la linéarité obtenue qui se situe entre 0,8 ng et 34 ng.

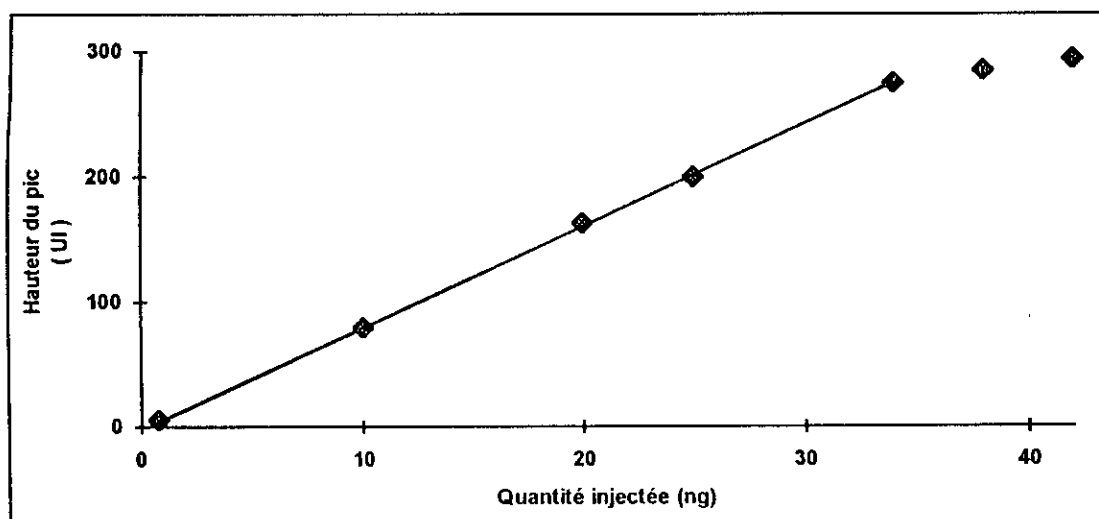


Figure n° 13 : domaine de linéarité de la méthode de dosage de la deltaméthrine par C.L.H.P..

b / - Deuxième méthode

Après l'acquisition d'une colonne neuve du même type que celle utilisée pour la première méthode, c'est-à-dire silices apolaires (ALKYLE), mais d'une marque différente, nous avons essayé de refaire le même travail afin de pouvoir comparer les résultats.

1/ - Matériel et réactifs

Le matériel et les réactifs utilisés ici sont les mêmes que précédemment en dehors de la colonne:

- Colonne SPHERISORB 5 ODS2, de 25 centimètres de long et 4,6 mm de diamètre interne (O.S.I.).

2/ - Injections d'essai

Les mêmes conditions opératoires que pour la précédente méthode ont été utilisées :

- phase mobile : méthanol - eau (95 : 5) V/V
- débit de la phase mobile : 1 ml/min
- longueur d'onde du détecteur : 225 nm.

Nous avons noté l'apparition d'un pic voisin à celui de la deltaméthrine. Ces deux pics n'ont pu être bien séparés qu'avec une phase mobile contenant 16 % d'eau, mais avec un temps de rétention de 17 minutes pour la deltaméthrine.

Nous avons alors décidé d'abandonner cette phase mobile et de faire des essais avec un autre solvant polaire : l'acétonitrile .

3/ - Spectre ultraviolet de la deltaméthrine dans l'acétonitrile

L'enregistrement du spectre ultraviolet d'une solution de 1 mg/ml de delta-méthrine dans l'acétonitrile à l'aide d'un spectrophotomètre SECOMAM 1000, montre une large bande d'absorption avec un maximum d'absorbance à 233 nm (figure n° 14).

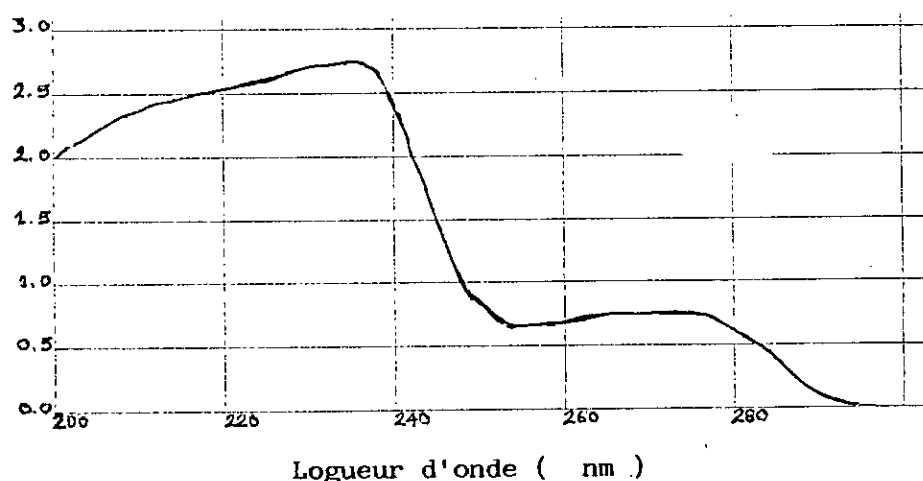


Figure n° 14 : spectre U.V. de la deltaméthrine dans l'acétonitrile.

4/ - Détermination de la composition de la phase mobile

En partant d'une phase mobile composée d'acétonitrile pur, et en fixant le débit de la pompe à 1 ml/min, nous avons fait varier sa composition au fur à mesure par ajout de quantités connues d'eau.

Nous avons suivi la variation du facteur de capacité k' (qui caractérise la rétention d'un composé) du pic de la deltaméthrine en fonction de la teneur en eau X. Il peut être déterminé expérimentalement au moyen de la relation suivante [60] :

$$k' = \frac{t_r - t_0}{t_0} \quad (\text{III})$$

où :

t_0 : temps de rétention nul en minutes.

t_r : temps de rétention du composé en minutes.

Nous avons observé (tableau n° IX et figure n° 15), comme l'on démontré beaucoup d'auteurs que $\text{Log}_{10} k'$ augmente linéairement en fonction de X [66].

X %	t_0 (min)	t_r (min)	k'	$\text{Log}_{10} k'$
0	2,36	3,18	0,35	-0,46
2	2,28	3,51	0,54	-0,27
4	2,29	4,18	0,83	-0,08
6	2,25	5,24	1,33	+0,13
8	2,25	6,79	2,02	+0,31

Tableau n° IX : Variation du facteur de capacité (k') en fonction de la teneur en eau X de la phase mobile.

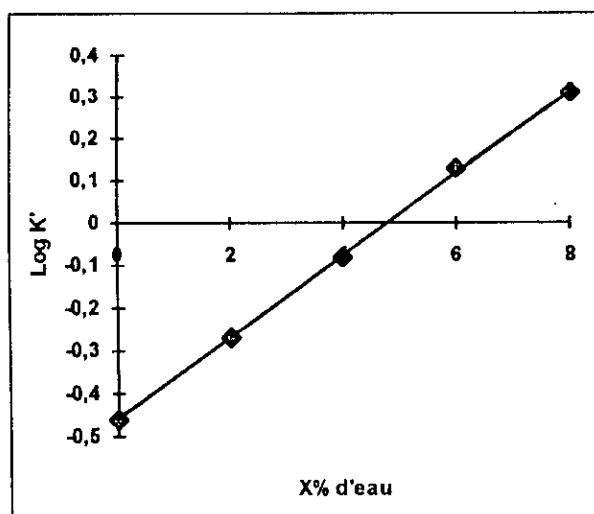


Figure n° 15 : représentation de la variation de $\text{Log}_{10} k'$ en fonction de la teneur en eau X de la phase mobile.

Nous sommes arrivés enfin de compte à obtenir un pic de deltaméthrine bien résolu pour $k' = 2$, avec une phase mobile composée du mélange : acétonitrile - eau (92:8) V/V.

5/ - Détermination du débit optimal de la phase mobile

Comme pour les précédentes méthodes, nous avons fait varier le débit de la phase mobile afin de déterminer son optimum (tableau n° X).

D (ml/min)	t _r (min)	σ (min)	N	H (mm)
0,7	9,82	0,21	12125	0,0206
0,8	8,60	0,18	13140	0,0190
0,9	7,66	0,16	12709	0,0197
1,0	6,89	0,15	11699	0,0214
1,1	6,29	0,14	11193	0,0223
1,2	5,76	0,13	10348	0,0242

Tableau n° X : Nombre de plateaux théoriques (N) et la H.E.P.T. (H) en fonction de D, le débit de la phase mobile: acétonitrile - eau (92:8) V/V.

Le tracé de la courbe $H = f(D)$ (figure n° 16) montre l'évolution de la H.E.P.T. en fonction du débit de la phase mobile. On voit que le débit optimal se trouve au voisinage de la valeur de 0,85 ml/min.

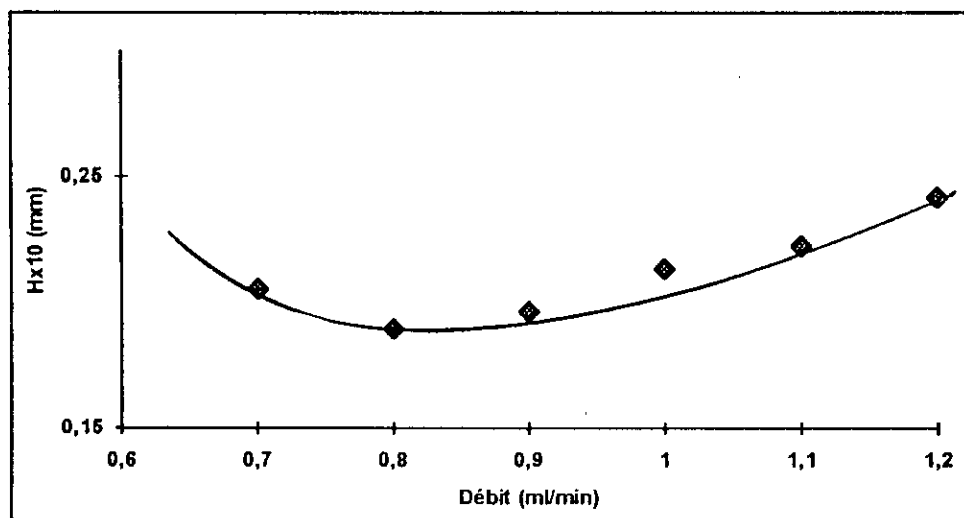


Figure n° 16 : représentation de la H.E.P.T. en fonction du débit de la phase mobile.

Le chromatogramme d'une solution de 1 µg/ml de deltaméthrine, dans les conditions fixées à savoir: phase mobile: acétonitrile - eau (92:8) V/V à un débit de 0,85 ml/min et une longueur d'onde de détection de 233 nm est rapporté sur la figure n° 17.

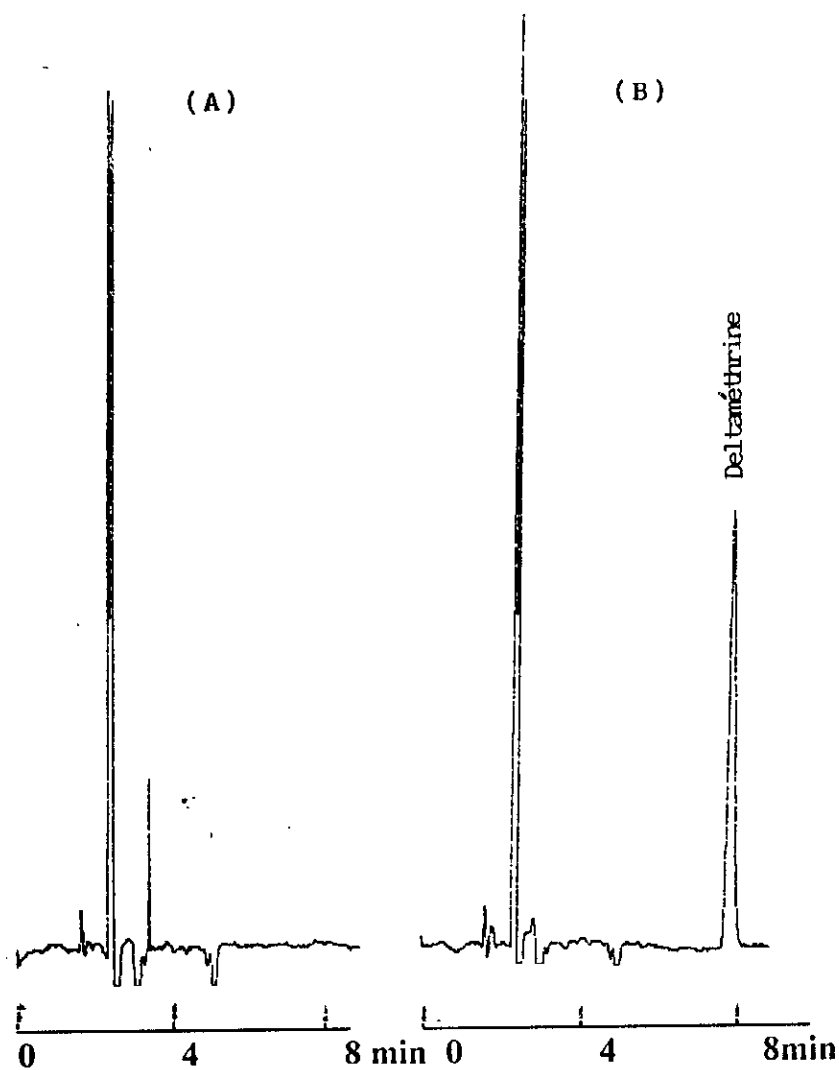


Figure n° 17 : chromatogrammes d'acétonitrile pur (A) et d'une solution de 1 µg/ml de deltaméthrine (B).

6/ - Quantité minimale détectable

Par la présente méthode, nous avons trouvé que la sensibilité du détecteur pour la deltaméthrine était de 0,02 µg/ml, ce qui conduit à une quantité minimale détectable de 0,4 ng, à un niveau de confiance de 90 % (figure n° 18).

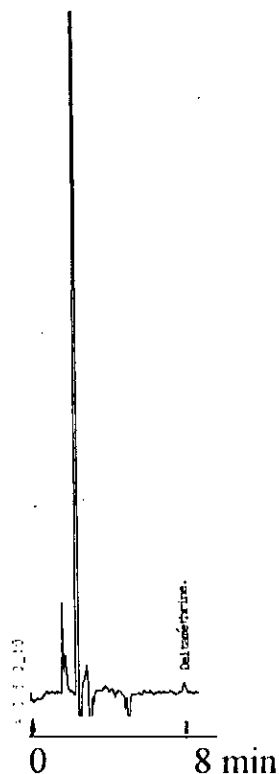


Figure n° 18 : limite de détection de la deltaméthrine.

7/ - Domaine de linéarité

Nous avons procédé de la même manière que pour les autres méthodes pour déterminer le domaine de linéarité. La figure n° 19 illustre ce domaine qui s'est avéré être compris entre 0,8 ng et 60 ng.

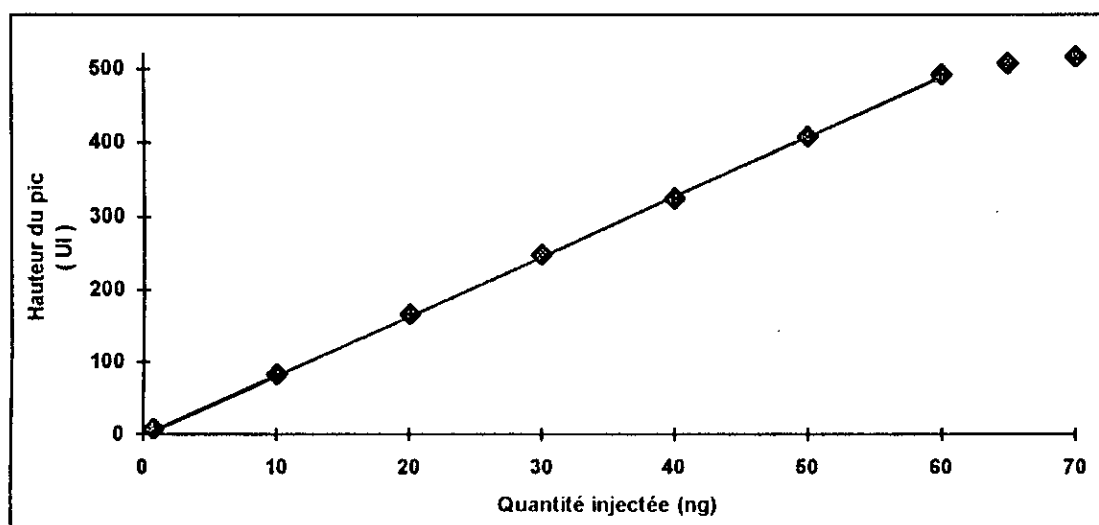


Figure n° 19 : domaine de linéarité de la méthode de dosage de la deltaméthrine par C.L.H.P..

C/ - RECAPITULATIF

Type de colonne	Phase mobile (V/V)	Longueur d'onde de détection (nm)	Sensibilité du détecteur ($\mu\text{g/ml}$)	Quantité minimale détectable (ng)	Domaine de linéarité (ng)
Spherisorb 5 CN (O.S.I.)	Hexane-éthanol (98:2)	224	0,01	0,2	0,4 - 40
Ultrasphère ODS 5 (Beckman)	Méthanol-eau (95:5)	225	0,02	0,4	0,8 - 34
Spherisorb 5 ODS 2 (OSI)	Acétonitrile-eau (92:8)	233	0,02	0,4	0,8 - 60

Tableau n° XI : récapitulatif des conditions opératoires et performance des trois méthodes de dosage de la deltaméthrine par C.L.H.P.

D / - CONCLUSION

La mise au point de ces trois méthodes de dosage de la deltaméthrine par C.L.H.P. s'est avérée nécessaire après la contamination rapide du détecteur à capture d'électron du chromatographe en phase gazeuse.

Le tableau n°XI nous montre que les trois méthodes se valent pratiquement du point de vue des performances, quoique celle par chromatographie de partage classique a un seuil de détection plus bas que les 2 autres, et que celle par chromatographie de partage à polarité inversée; utilisant l'acétonitrile - eau comme phase mobile, a un domaine de linéarité plus étendu.

L'analyste pourra utiliser avec le même succès l'une d'entre elles; son choix restera seulement conditionné par la disponibilité de la colonne et des solvants.

IV/ - EXTRACTION ET PURIFICATION DES RESIDUS DE LA DELTAMETHRINE A PARTIR DE CERTAINS ALIMENTS

Nous avons choisi d'essayer une méthode d'extraction et purification des résidus de la deltaméthrine, déjà décrite dans la littérature pour la tomate et la carotte [07], du fait de la disponibilité des produits chimiques à utiliser.

Cette méthode est basée sur une extraction au chloroforme, suivie d'une purification sur colonne de gel de silice activé, selon la méthode de BAKER et BOTTOMLEY [13].

1/ - Matériel et réactifs

- Evaporateur rotatif sous vide avec, bain thermostaté (HEIDOLPH).
- Broyeur (SORVALL).
- Agitateur magnétique (JOUAN)
- Dispositif buchner pour filtration sous vide.
- Colonne Pyrex, à robinets Teflon de 30 cm de long et 1 cm de diamètre interne.
- Pipette Pasteur.
- Laine de verre.
- Papier filtre WHATMAN N° 3.
- Verrerie courante de laboratoire.
- Chloroforme pour analyse (MERCK).
- Eau bi - distillée.
- Gel de silice 70 à 230 mesh A.S.T.M. (MERCK), activé à 130°C pendant 10 heures.
- Sulfate de sodium anhydre pour résidus de pesticides (MERCK).
- Hexane pour résidus de pesticides (MERCK).
- Dichlorométhane pour analyse (MERCK).
- Acétonitrile pour chromatographie (MERCK).

2/ - Extraction

25 grammes d'échantillon sont broyés ou coupés en petits morceaux (selon la nature de l'aliment) et transférés dans un becher de 150 ml contenant 20g de sulfate de sodium anhydre; on ajoute 100 ml de chloroforme et on agite le mélange pendant 5 minutes. On décante le solvant sur buchner en utilisant un papier filtre WHATMAN n° 3. On ajoute 50 ml de chloroforme au becher et on agite encore pendant 5 minutes.

Le mélange est filtré sur buchner comme la première fois, puis on lave le buchner avec 2 portions de 15 ml de chloroforme qu'on utilise pour rincer le buchner. On transfère le filtrat dans une ampoule à décanter de 500 ml et on lave la fiole du buchner avec 2 portions de 50 ml d'eau bidistillée qu'on ajoute à l'ampoule à décanter. On agite doucement pour éviter les émulsions. On rejette la phase aqueuse, et on sèche la phase chloroformique, en la passant sur une colonne en verre contenant 15 g de sulfate de sodium anhydre. On concentre l'extrait de chloroforme à 5 ml en utilisant un évaporateur rotatif sous pression réduite à 40°C.

Résumé:

25 g de l'échantillon
(coupés ou broyés)

- * 20 g de sulfate de sodium anhydre.
- * 100 ml de chloroforme.
- * Agiter pendant 5 minutes.
- * Décanter le solvant sur buchner + papier filtre WHATMAN n°3.
- * 50 ml de chloroforme.
- * Homogénéiser pendant 5 minutes.
- * Filtrer sur buchner.
- * 2 x 15 ml de chloroforme pour laver le becher et rincer le buchner.
- * Transférer dans une ampoule à décanter.
- * 2 x 50 ml d'eau bidistillée pour laver la fiole du buchner.
- * Ajouter l'eau à l'ampoule et laisser décanter.
- * Sécher la phase de chloroforme sur colonne de 15 g de sulfate de sodium anhydre.
- * Concentrer à 5 ml sur évaporateur rotatif à 40°C.
- * Purifier.

3/ - Purification

En utilisant une pipette pasteur, on transfère l'extrait de chloroforme dans une colonne en verre contenant 5 g de gel de silice activé à 130°C pendant 10 heures et tassé en boue avec de l'hexane . On laisse passer la solution. On rince le ballon de l'évaporateur rotatif avec deux portions de 10 ml d'hexane qu'on transfère aussi dans la colonne et qu'on laisse passer; on rejette l'éluant et on répète l'opération avec 25 ml d'hexane - dichlorométhane (4+1); on rejette l'éluant. On élue finalement la colonne avec 60 ml de dichlorométhane qu'on recueille. On élimine le dichlorométhane par évaporation à sec dans l'évaporateur rotatif à 40°C.

Le résidu sec est repris avec 10 ml d'acétonitrile (de méthanol ou d'hexane). Il est alors prêt à être analysé soit par colorimétrie, soit par C.L.H.P. ou par C.P.G. avec détecteur à capture d'électron.

* Résumé :

5 ml d'extrait

- * Colonne de 5 g de gel de silice activé.
- * 2 fois 10 ml d'hexane pour rincer le ballon et transférer sur la colonne.
- * Rejeter l'éluant.
- * 25 ml d'hexane-dichlorométhane (4 + 1).
- * Rejeter l'éluant.
- * 60 ml de dichlorométhane.
- * Evaporation à sec du dichlorométhane sur évaporateur rotatif à 40°C.
- * 10 ml d'acétonitrile (de méthanol , ou d'hexane) pour dissoudre le résidu de deltaméthrine.
- * Echantillon prêt pour le dosage.

4/ - Taux de récupération de la méthode d'extraction - purification

Pour tester les performances de cette méthode d'extraction - purification, nous avons choisi des aliments de consommation courante, produits en Algérie: le blé, la pomme de terre et la tomate, dont nous avons pris des échantillons. Nous avons effectué respectivement deux analyses : l'une après ajout d'une quantité connue de deltaméthrine (échantillon fortifié) et l'autre sans ajout. La première analyse a été répétée vingt fois afin d'évaluer la reproductibilité de la méthode. Les quantités de deltaméthrine ajoutée étaient de 1 p.p.m. pour le blé et la pomme de terre et de 0,5 p.p.m. pour la tomate (des quantités qui se rapprochent le plus des doses d'utilisation préconisées par le fabricant)[30]. L'échantillon fortifié est laissé au repos pendant une heure avant de subir l'opération d'extraction-purification. Le résidu obtenu après cette opération a été analysé par deux méthodes : colorimétrie et C.L.H.P., afin de pouvoir établir une corrélation entre elles.

Pour l'analyse par C.L.H.P., nous avons opté pour la méthode avec étalon externe car elle offre l'avantage que le volume d'injection n'a pas une grande importance, à condition qu'il reste constant lors de l'étalonnage et du dosage et que les conditions chromatographiques restent invariantes, ainsi que la hauteur du pic pour la quantification car dans le domaine de l'analyse des résidus de pesticides (souvent à l'état de trace) une précision de 10% est considérée comme suffisante[60]. Pour les calculs nous avons utilisé la formule suivante [62] :

$$X = \frac{A_s \times H_y \times V}{H_s \times y \times M} \quad (IV)$$

où :

X : quantité de deltaméthrine dans l'échantillon (p.p.m.).

A_s : quantité de deltaméthrine injectée dans la colonne C.L.H.P. de la solution d'étalon (ng).

H_s : hauteur du pic lu sur le chromatogramme après une injection de A_s ng du composé pur (cm).

V : volume du solvant dans lequel l'extrait purifié est dissout (ml).

y : Volume de l'extrait dissout injecté dans la colonne C.L.H.P. (μl).

H_y : hauteur du pic de la deltaméthrine après l'injection d'un volume de l'extrait dissout (cm).

M : quantité de l'échantillon analysé (g).

Nous avons noté, lors des analyses par C.L.H.P. des échantillons non fortifiés l'absence d'un pic au temps de rétention de la deltaméthrine (figures n° 20, 21, 22; chromatogrammes A).

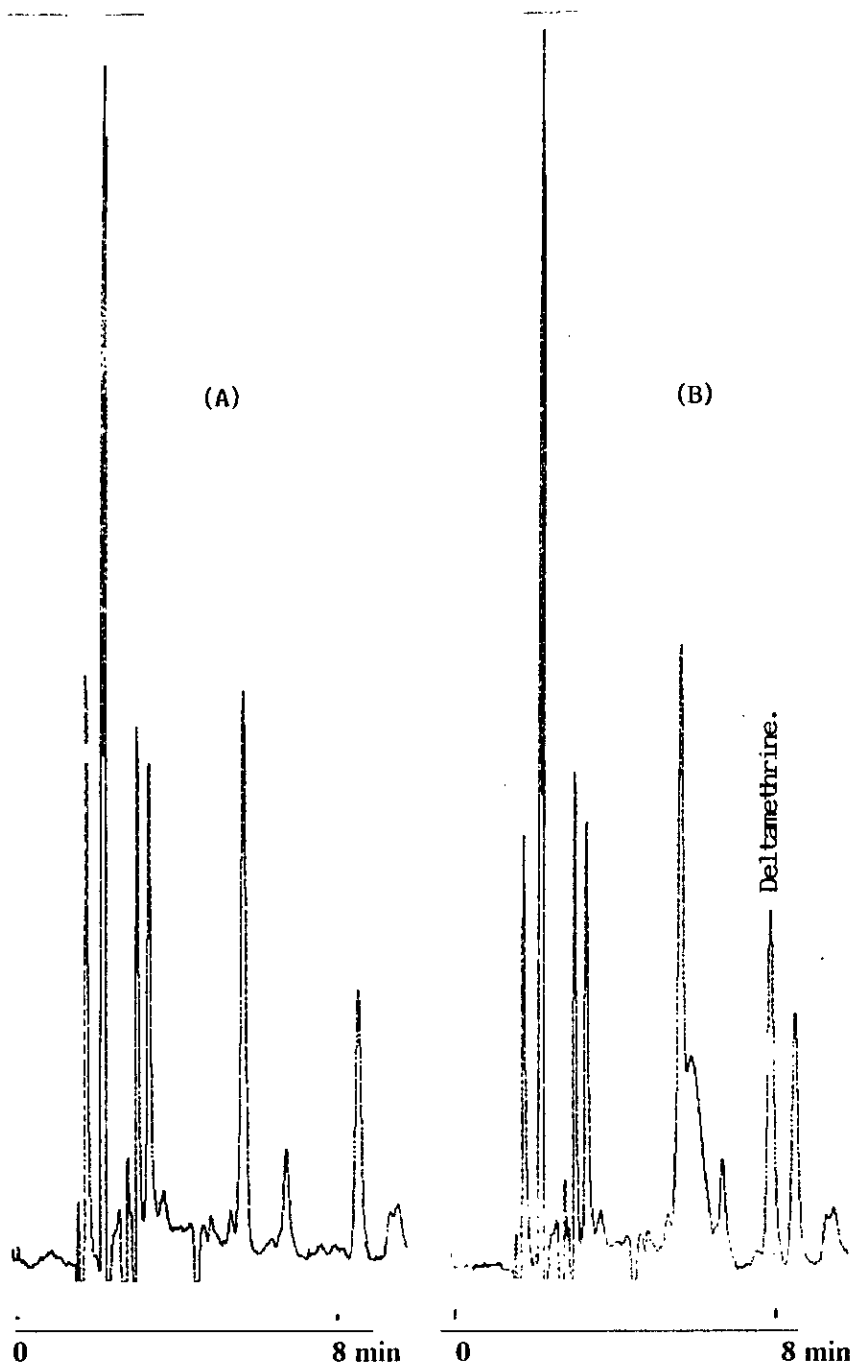


Figure n° 20 : chromatogrammes de : (A) échantillon de blé non fortifié, (B) : échantillon de blé. fortifié. Analyse par C.L.H.P. colonne Spherisorb 5 ODS2 (O.S.I.), 25 cm de long et 4,6 mm de d.i, détecteur Holochrome à 233 nm, absorbance : 0,05 A.U.F.S., phase mobile: acétonitrile - eau (92:8) V/V, débit : 0,85 ml/min.

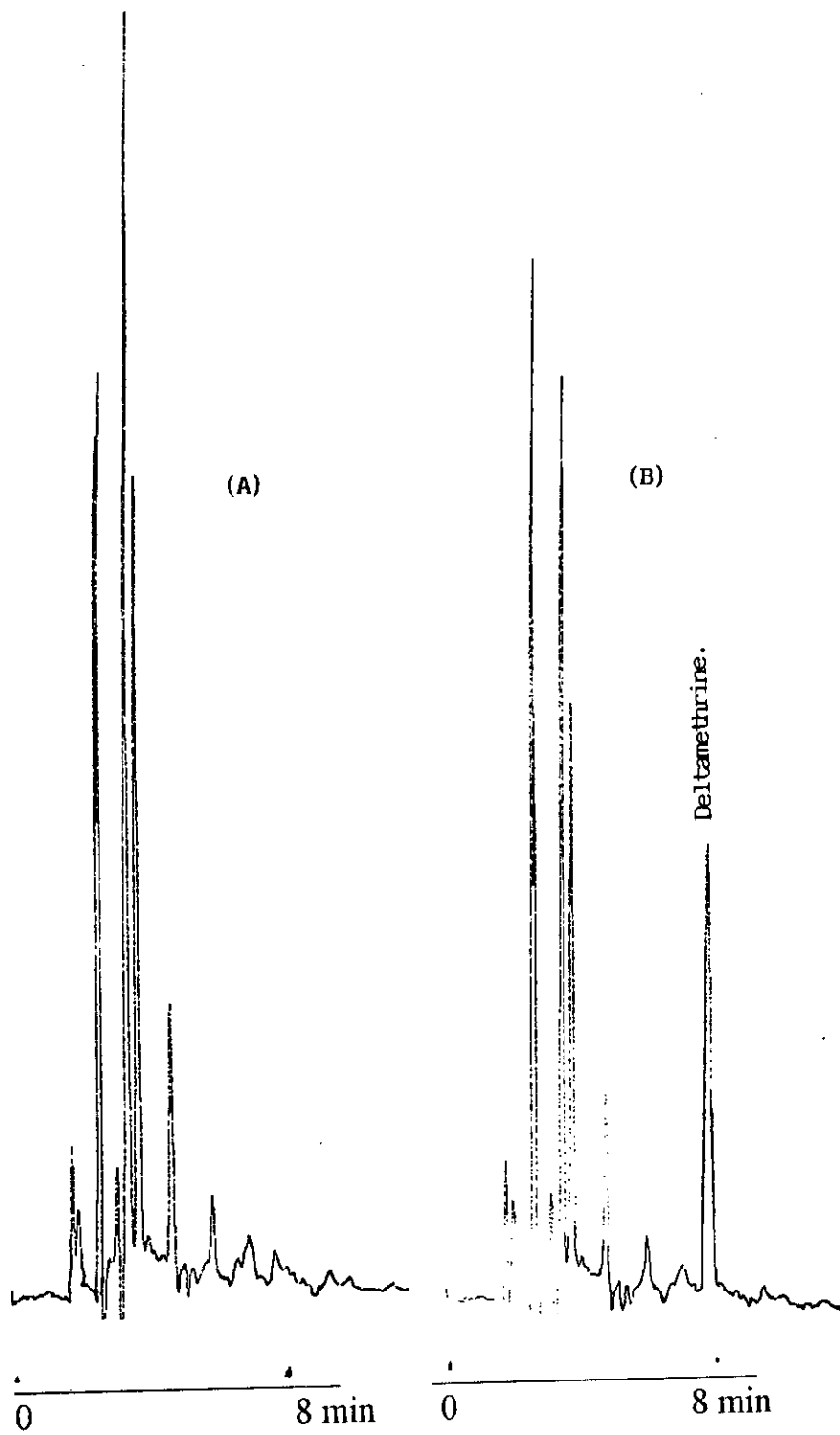


Figure n° 21 : chromatogrammes de : (A) échantillon de pomme de terre non fortifié, (B) : échantillon de pomme de terre fortifié. Mêmes conditions chromatographiques que pour figure 20.

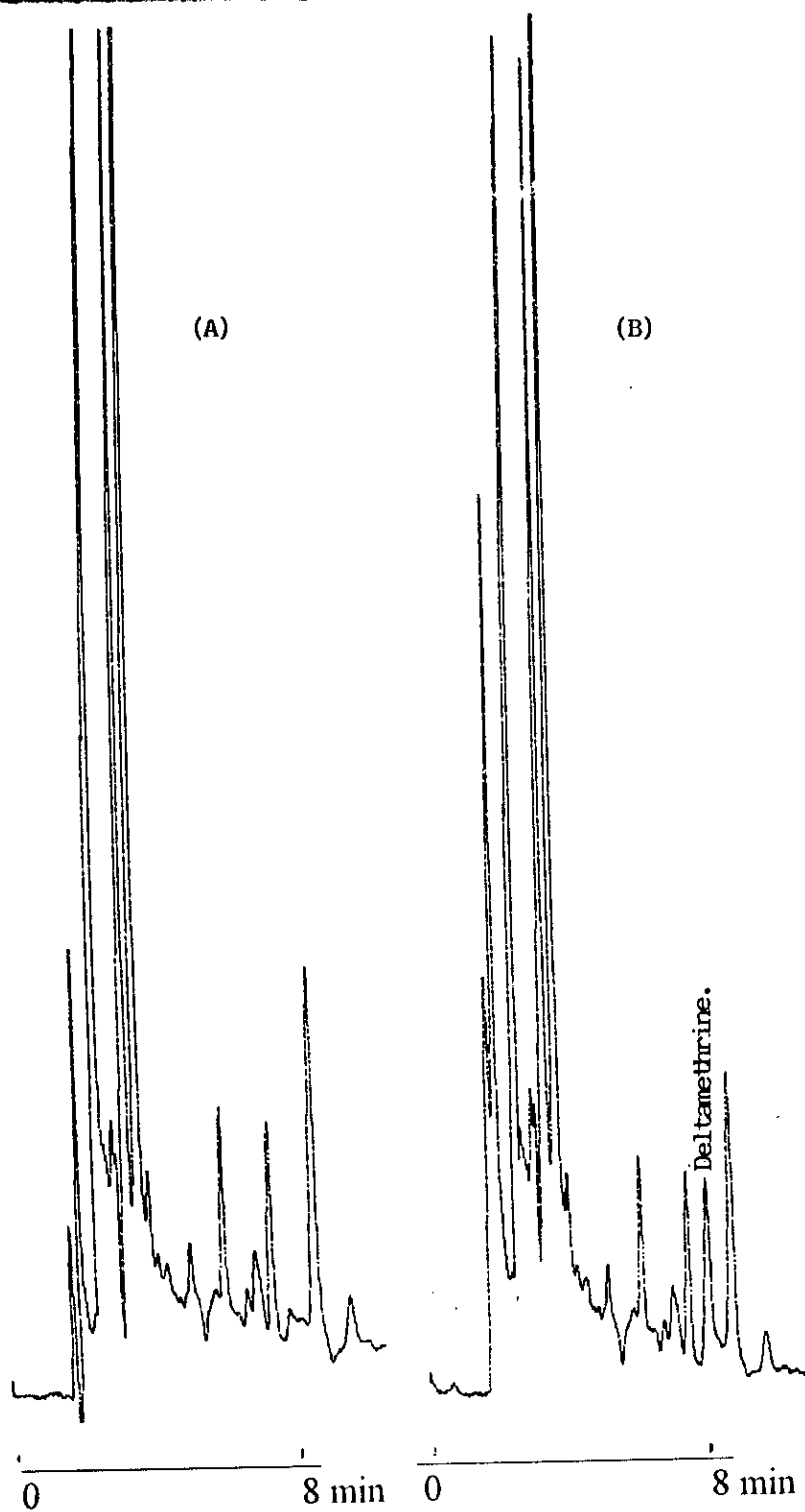


Figure n° 22 : chromatogrammes de : (A) échantillon de tomate non fortifié, (B) : échantillon de tomate fortifié. Mêmes conditions chromatographiques que pour figure 20.

Les résultats obtenus respectivement par chacune des deux méthodes d'analyse sont consignés dans le tableau n° XII et les chromatogrammes présentés sur les figures n° 20, 21 et 22 (chromatogrammes B).

	B L E		POMME DE TERRE		TOM ATE	
	A	B	A	B	A	B
Taux moyen de récupération (%)	85,80	88,70	76,40	80,40	81,00	87,00
Ecart - type	0,023	0,020	0,021	0,014	0,022	0,023
Coefficient de variation (%)	2,68	2,26	2,75	1,74	2,19	2,29

Tableau n° XII: taux de récupération de la deltaméthrine dans les échantillons fortifiés (A : mesuré par C.L.H.P. , B : mesuré par colorimétrie).

5/- Corrélation entre les deux méthodes d'analyse : colorimétrie et C.L.H.P.

Les résultats obtenus par les deux méthodes nous ont permis d'établir une corrélation entre elles dont les paramètres; consignés dans le tableau XIII, sont [63] :

($Y = a X + b$) : équation de la droite de régression.

Y : taux de récupération obtenus par colorimétrie.

X : taux de récupération obtenus par C.L.H.P.

n : nombre d'échantillons (20)

R : coefficient de corrélation

$$a = \frac{\Sigma X.Y}{\Sigma X^2} \quad (V)$$

$$b = a \frac{\Sigma Y - \Sigma X}{n} \quad (VI)$$

$$R = \frac{\Sigma X.Y}{(\Sigma X^2 \Sigma Y^2)^{1/2}} \quad (VII)$$

	Blé	Pomme de terre	Tomate
Equation de la droite de régression	$Y = 0,71 X + 27,72$	$Y = 0,57 X + 27,72$	$Y = 0,95 X + 10,09$
Coefficient de corrélation : R	0,8710	0,8341	0,9074

Tableau n° XIII : corrélation entre les résultats obtenus par colorimétrie et C.L.H.P.

La figure n° 23 illustre ces résultats.

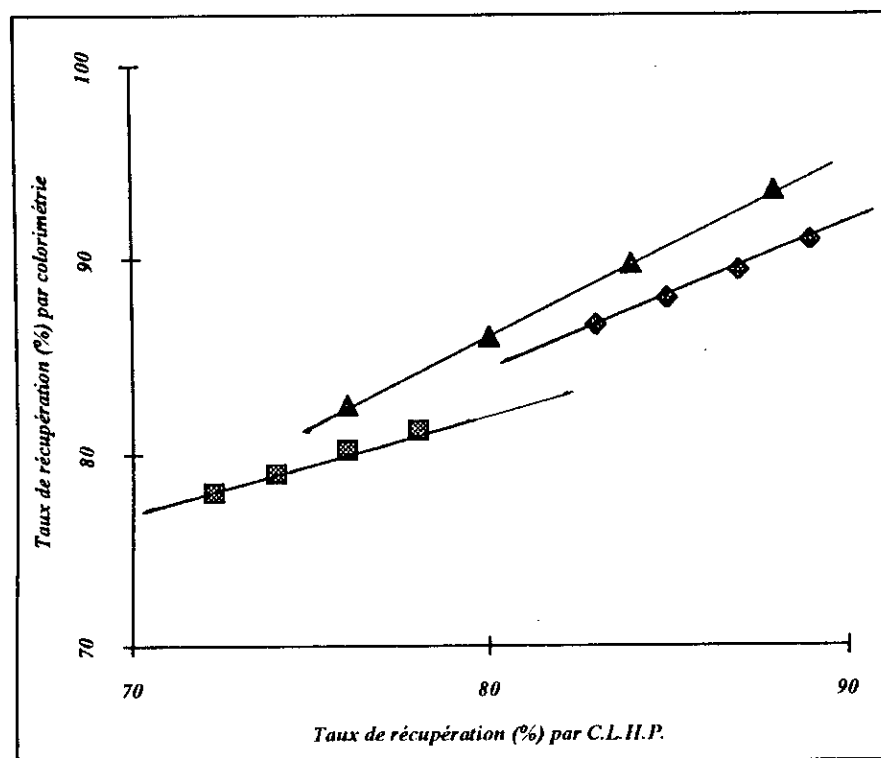


Figure n° 23 : droites de régression (▲ : blé, ■ : pomme de terre, ◆ : tomate).

7 - Discussion

L'analyse par chromatographie liquide de haute performance des échantillons non-fertilisés des différents aliments choisis après la procédure d'extraction - purification indique l'absence d'un pic au temps de rétention de la deltaméthrine.

Sous les conditions chromatographiques déjà citées, la deltaméthrine a un temps de rétention identique à celui des solutions standards, et son pic est bien résolu par rapport aux pics voisins dans les échantillons fertilisés.

La méthode d'extraction - purification a donné des très bons taux de récupération, les différents coefficients de variation calculés sont tous inférieurs à 6 % indiquant sa très bonne reproductibilité [63].

Le résultat moindre obtenu avec la pomme de terre pourrait être expliqué par une plus grande perte au moment de l'introduction de la surcharge par vaporisation[64].

La comparaison des résultats obtenus, pour un même échantillon par les deux méthodes analytiques choisies, montre qu'il y a une bonne corrélation entre elles. Les coefficients de corrélation R calculés sont d'un niveau de signification très élevé (supérieurs aux valeurs données par la table des significations de R aux différents niveaux de confiance [63]).

7/ - Conclusion

Nous avons décidé d'opter pour cette méthode d'extraction et purification, car elle nous a donné des taux de récupération satisfaisants et une bonne résolution du pic de la deltaméthrine.

Les deux méthodes analytiques utilisées ont montré une bonne corrélation. L'utilisation de la colorimétrie pour doser les résidus de deltaméthrine est possible pour des taux supérieurs à 0.4 p.p.m., en cas d'absence ou de panne de chromatographe (en phase liquide ou gazeuse), ses inconvénients restent la consommation de produits chimiques, le seuil de détection élevé et la spécificité réduite, qui restreignent son utilisation, contrairement à la méthode par C.L.H.P..

V/- APPLICATIONS PRATIQUES

Une fois les méthodes d'analyse mises au point, nous avons choisi de faire une étude pratique sur la tomate traitée par la deltaméthrine conditionnée en Algérie par ASMIDAL (DECIS : concentré émulsionnable) et de contrôler des échantillons de pomme de terre et de blé importés.

1/- Etude sur tomate traitée

L'étude a été réalisée à la ferme expérimentale de Staouali (I.T.C.M.I.), sur la variété de tomate appelée : carmello. La dose simple préconisée par le fabricant est de 12,5 g de matière active par hectare [30].

Le protocole expérimental adopté a été celui des blocs aléatoires décrit sur la figure n° 24.

Dose double		Dose simple	
b		b	
t		t	
t ₁		t ₁	
t ₂		t ₂	
t ₃		t ₃	
b		b	
t		t	
t ₁		t ₁	
t ₂		t ₂	
t ₃		t ₃	
b		b	
t		t	
t ₁		t ₁	
t ₂		t ₂	
t ₃		t ₃	
b		b	

Figure n° 24: dispositif expérimental (b : bordure, t : témoin non traité par la deltaméthrine, t₁ : traitement un jour avant récolte, t₂ : traitement trois jours avant récolte, t₃ : traitement sept jours avant récolte).

Les résultats obtenus après dosage des résidus par colorimétrie sont présentés dans le tableau n° XIV. Chaque résultat est la moyenne de trois échantillons prélevés qui a été multiplié par 1/R, (R = 0,87 ; taux de récupération de l'extraction - purification).

Temps après traitement (jour)	X (p.p.m.)		
	Témoin	Echantillon ayant reçu une dose simple	Echantillon ayant reçu une dose double
1	non détectée	1,207	2,061
3	non détectée	0,861	1,560
7	non détectée	0,455	1,013

Tableau n° XIV : Résidus de deltaméthrine dosés dans la tomate.

Ces résultats montrent qu'il faut plus de sept jours après un traitement pour obtenir un niveau de résidus conforme à la L.M.R. fixée : 0,2 p.p.m. [41]. Nous avons surtout observé une différence nette entre les témoins et les échantillons traités; ces derniers n'ont subi aucune altération. Les résultats obtenus sur les échantillons ayant reçu une dose double montrent le danger d'un traitement intensif.

2/ - Dosage de résidus de deltaméthrine dans le blé et la pomme de terre d'importation

Nous avons prélevé des échantillons de blé d'importation au niveau du port d'Alger et de pomme de terre d'origine canadienne au niveau de l'ENAFROID de Corso . Les résidus extraits et purifiés sont analysés par C.L.H.P..

Pour les calculs, nous avons utilisé la formule n° IV, qu'on multiplie par 1/R, R étant le taux de récupération de la méthode d'extraction - purification (R = 0,858 pour le blé, R = 0,764 pour la pomme de terre). Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux n° XV et XVI. Des chromatogramme - types de ces analyses sont rapportés sur les figures n° 25 et 26. Des représentations graphiques sont rapportées sur les figures n° 27 et n° 28.

Echantillon de blé n°	Provenance	Dose moyenne de 3 injections (p.p.m.)
01	Italie	non détectée
02	Italie	0,32
03	Canada	non détectée
04	U.S.A.	0,08
05	Inconnue	0,28
06	Canada	0,14
07	Inconnue	0,28
08	Canada	0,59
09	Canada	0,30
10	Canada	0,04
11	Italie	non détectée
12	Italie	non détectée
13	Canada	0,20
14	U.S.A.	non détectée
15	Canada	0,20
16	Inconnue	0,08
17	Canada	0,33
18	Inconnue	0,45
19	Canada	non détectée
20	Canada	0,15

Tableau n° XV : résidus de deltaméthrine dans le blé d'importation.

Echantillon de pomme de terre n°	Dose moyenne de 3 injections
01	non détectée
02	0,11
03	non détectée
04	non détectée
05	non détectée
06	0,17
07	0,08
08	0,28
09	0,24
10	0,12
11	0,20
12	0,25
13	0,39
14	0,35
15	0,17

Tableau n° XVI : résidus de deltaméthrine dans la pomme de terre importée du Canada.

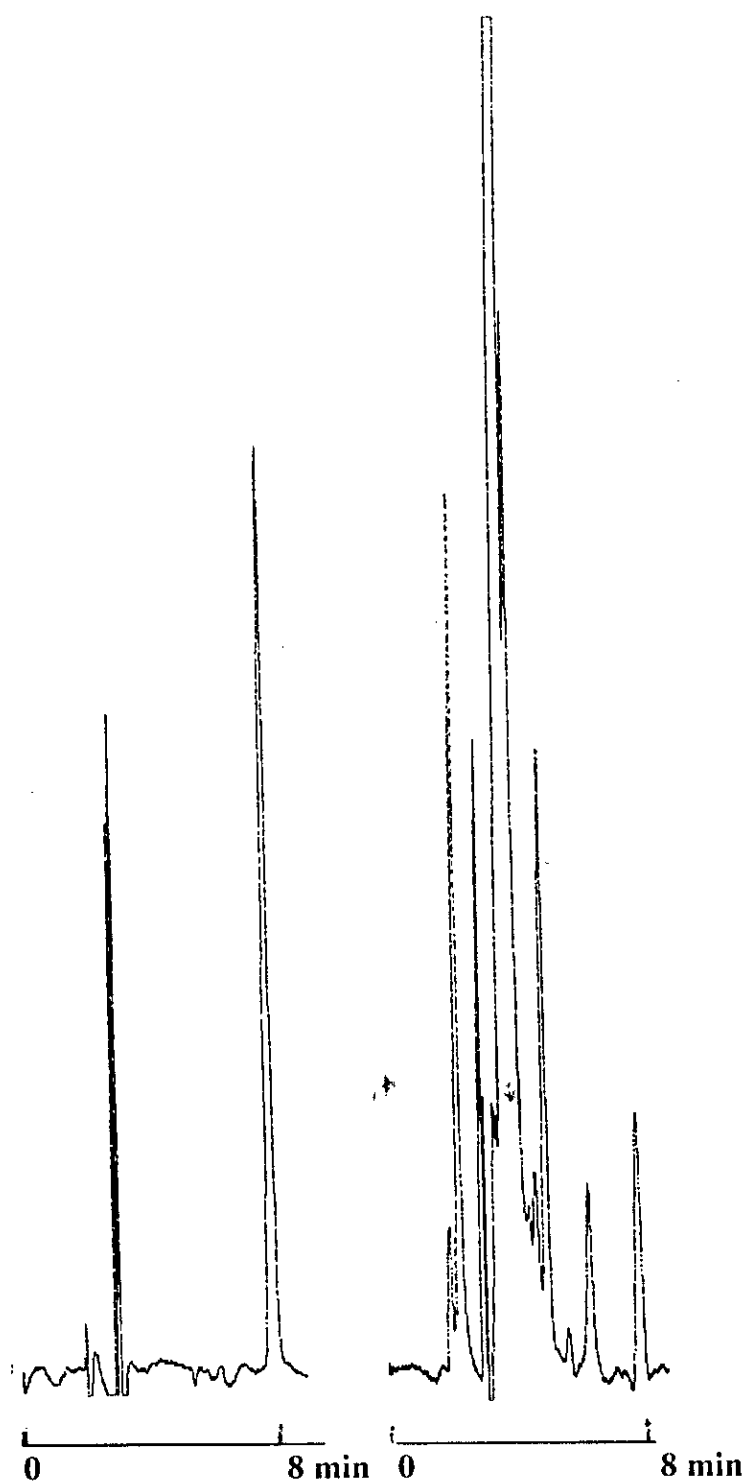


Figure n° 25 : chromatogrammes de : (A) solution étalon de deltaméthrine à 2 µg/ml, (B) : échantillon de blé. Analyse par C.L.H.P. colonne Spherisorb 5 ODS2 (O.S.I.), 25 cm de long et 4,6 mm de d.i, détecteur Holochrome à 233 nm, absorbance : 0,05 A.U.F.S., phase mobile: acétonitrile - eau (92:8) V/V, débit : 0,85 ml/min.



Figure n° 26 : chromatogrammes de : (A) solution étalon de deltaméthrine à 2 µg/ml,
(B) : échantillon de pomme de terre. Mêmes conditions chromatographiques que figure n° 25.

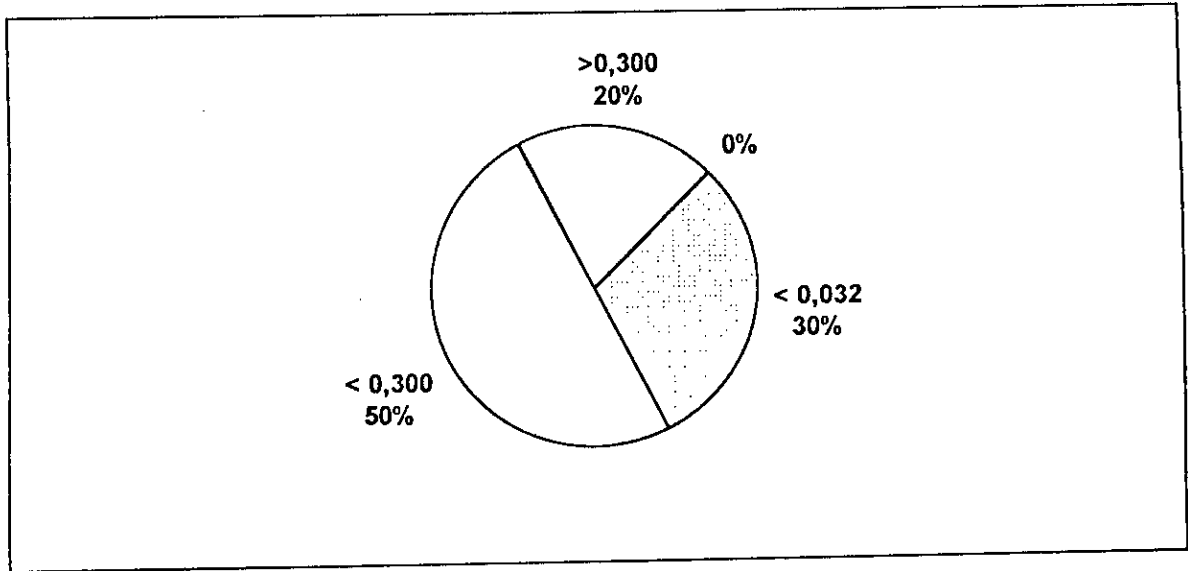


Figure n° 27 : représentation graphique des résidus en p.p.m de la deltaméthrine dosés dans le blé d'importation.

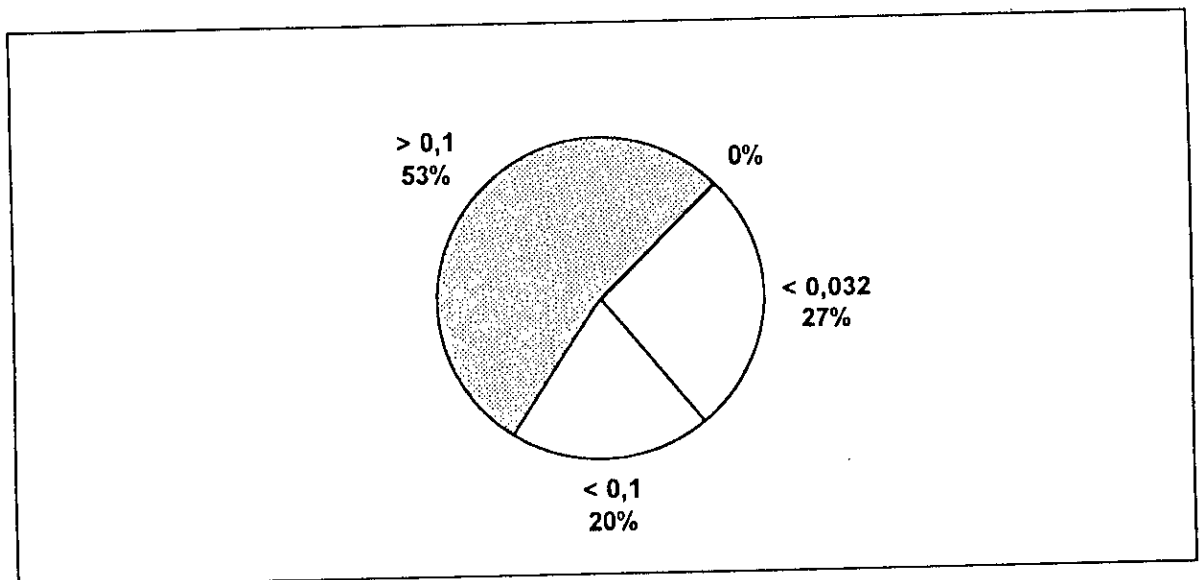


Figure n° 28 : représentation graphique des résidus en p.p.m de la deltaméthrine dosés dans la pomme de terre d'importation.

Les résultats mentionnés dans les tableaux ci-dessus ont confirmé l'utilisation de la deltaméthrine par les exportateurs de blé et de pomme de terre. Si les résidus dosés dans le blé sont très inférieurs à la L.M.R. fixée par l'O.M.S. /F.A.O. [44] (1 p.p.m.), par contre ceux trouvés dans la pomme de terre sont supérieurs à la L.M.R. (0,1 p.p.m.) pour la plupart d'entre eux.

3/ - CONCLUSION

La deltaméthrine est un puissant insecticide qui protège bien les cultures. Elle se dégrade bien dans le temps, donc ne pose pas de problème de rémanence et d'accumulation.

L' utilisation de la deltaméthrine par les exportateurs des denrées stockées a été largement confirmée par les résultats trouvés. Les résidus dosés dans la pomme de terre dépassant les normes, nous sommes parvenus à conclure qu'un contrôle strict des produits alimentaires importés s'impose plus que jamais afin de protéger les consommateurs.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail nous a permis d'aborder un problème très sensible de nos jours, à savoir l'impact des pesticides sur l'homme et son environnement, et en particulier son alimentation.

Au terme de notre étude, nous pouvons confirmer l'intérêt de l'emploi des pesticides en agriculture et plus précisément celui de la deltaméthrine, puisqu'elle s'est avérée être :

- efficace,
- facile d'emploi,
- biodégradable,
- de coût limité du fait des très faibles doses nécessaires aux traitements des cultures et des récoltes.

Nous avons par ailleurs pu constater que la deltaméthrine était bien utilisée en Algérie dans l'agriculture et que certains produits importés en Algérie avaient subi un traitement à la deltaméthrine.

Cependant, les résultats que nous avons obtenus montrent la présence de résidus de deltaméthrine dans les aliments prêts à être consommés. Même si les quantités détectées sont faibles, elles présentent des risques potentiels pour l'homme puisque la toxicité peut apparaître à des doses infimes, comme le confirment les normes F.A.O. / O.M.S..

C'est pourquoi un contrôle systématique de la qualité des aliments s'avère indispensable. On comprend alors l'importance de la mise au point de techniques de recherche et d'analyse des résidus de deltaméthrine dans les aliments.

Nous avons effectué ce travail avec le souci de la recherche :

- **de l'efficacité** : précision et grande sensibilité sont des impératifs dans le cas des pesticides,
- **de l'économie** : étant donné les moyens limités dont nous disposons actuellement, l'utilisation de produits courants, dans des quantités les plus faibles possibles, est un avantage considérable,
- **du gain de temps** : dans le cas d'un contrôle systématique, le nombre d'échantillons peut être très élevé.

Nous avons tout d'abord testé le dosage de la deltaméthrine par C.P.G. couplée à un détecteur à capture d'électron (D.C.E.), méthode la plus citée dans la littérature et qui présente l'avantage de posséder un seuil de détection très bas. Mais, étant donné les difficultés rencontrées du fait de la contamination rapide du D.C.E. , nous avons dû abandonner cette méthode. En effet, d'une part ce phénomène semble lié à la mauvaise qualité du gaz vecteur utilisé (l'azote) fourni par l'E.N.G.I. , et d'autre part, il nous a pas été possible de trouver un technicien spécialisé capable de procéder à la décontamination du détecteur.

Ceci nous a amené à développer les deux autres méthodes d'analyse, beaucoup moins utilisées dans la littérature pour le dosage des résidus de deltaméthrine : la colorimétrie et la C.L.H.P. Nous pensons avoir apporté une contribution enrichissante dans ce domaine, par la mise au point de techniques analytiques correspondant à des paramètres optimaux.

La mise au point de la méthode de dosage de la deltaméthrine par colorimétrie est un apport pour pallier l'absence de chromatographe (en phase liquide ou gazeuse). Elle peut servir aux laboratoires nationaux non équipés de ce type d'appareil d'analyse pour doser les résidus de ce pesticide à un seuil de détection de 0,4 p.p.m.. Elle peut surtout servir pour le contrôle de qualité des produits formulés, à un coût moindre. Par ailleurs les résultats obtenus par cette méthode ont montré une bonne corrélation avec ceux obtenus par C.L.H.P., sans différence significative, confirmant sa validité.

La rareté des références bibliographiques sur le dosage des résidus de la deltaméthrine par C.L.H.P. , nous a poussé à mettre au point trois méthodes d'analyse avec une détection spectrophotométrique U.V./ Visible. Les résultats obtenus montrent qu'elles se valent du point de vue performance. Nous avons préféré utiliser, dans l'étude pratique, celle avec une colonne ODS 2 et une phase mobile : acétonitrile - eau, du fait de son domaine de linéarité plus large. Ces méthodes sont un apport sur le plan analytique car elles ouvrent une autre perspective de dosage de la deltaméthrine, facilitant grandement le travail de l'analyste par la diversité des phases mobiles et de type de colonnes, avec des seuils de détection très intéressants (0,016 p.p.m. et 0,032 p.p.m.). La méthode citée plus haut est, depuis que nous l'avons mise au point, utilisée au Service de Toxicologie de l'I.C.A. pour le contrôle de qualité du produit formulé par ASMIDAI. (concentration en matière active).

Par ailleurs, la méthode d'extraction - purification que nous avons adaptée et testée et qui consiste en une extraction au chloroforme suivie d'une purification sur gel de silice activé s'est révélée tout à fait satisfaisante puisque :

- elle conduit à des taux de récupération de la deltaméthrine compris entre 80% et 90%,
- elle utilise des produits chimiques courants et relativement peu onéreux : chloroforme, dichlorméthane et hexane.

L'étude pratique sur la tomate cultivée sous serre nous a permis d'assister à toute les étapes de préparation précédant l'implantation, à la réalisation de celle-ci et aux traitements à la deltaméthrine effectués. Nous avons eu la confirmation de la force de ce pesticide dans la protection du végétal traité et la qualité de ce dernier par rapport à un autre échantillon non traité. Les analyses ont montré une dégradation rapide de la deltaméthrine au fil des jours, l'importance des respects des doses préconisées et des délais de récolte. En effet, les résultats obtenus mettent en évidence que la quantité de deltaméthrine résiduelle dans les échantillons dépend :

- de la dose de deltaméthrine appliquée lors du traitement,
- du temps écoulé après le traitement.

En ce qui concerne le blé d'importation, les doses de deltaméthrine trouvées dans les échantillons étudiés sont inférieures à la L.M.R. fixée par la F.A.O. / O.M.S. (1 p.p.m.) et ne posent pas de problème.

En revanche, dans le cas de la pomme de terre d'importation, les résidus de deltaméthrine ont été trouvés supérieurs à la L.M.R. fixée par la F.A.O. / O.M.S. (0,1 p.p.m.) dans la plupart des échantillons analysés.

A l'issue de cette étude, nous pouvons tirer les conclusions et les recommandations suivantes :

- la deltaméthrine présente des avantages certains par rapport à d'autres pesticides et mériterait de voir son utilisation se développer en Algérie. Des campagnes d'information et de promotion seraient dans ce sens très utiles,
- l'utilisation de la deltaméthrine, comme tous les autres pesticides, doit se faire avec précaution, du fait des effets toxiques pour l'homme et son environnement (les poissons et insectes utiles sont par exemple détruits par la deltaméthrine) : il est impératif de respecter pour les traitements les doses préconisées et les délais de récoltes. Il faut donc procéder à des campagnes d'information et de formation au niveau des agriculteurs souvent non conscients des risques,
- une réglementation rigoureuse pour l'utilisation des pesticides doit être mise en place en Algérie, ainsi que des structures qui veilleraient à son respect et au contrôle de la qualité des aliments. Ceci suppose donc la création de laboratoires spécialisés dans le dosage des résidus de pesticides et qui procéderaient à des contrôles systématiques sur les produits locaux ou importés,
- un contrôle strict de la qualité des pesticides importés, veillant au respect des dates de péremption et à leur conformité par rapport aux normes admises dans les pays développés.

BIBLIOGRAPHIE

- [01] - F. KALOYANOVA - SIMEONOVA et E. FOURNIER, Les pesticides et l'Homme, Ed MASSON, PARIS, 1971
- [02] - M.L. BOUGUERRA, La Recherche, 1986, n° 176, pp 545 - 553
- [03] - R. DERRACHE, Toxicité et Sécurité des Aliments, Librairie - LAVOISIER, PARIS. 1986
- [04] - L. RICHOUE - BAC et A. VENANT, Bull.Acad .Vet de FRANCE , 1985 , 58 , pp 199 - 212
- [05] - O.C.D.E., Pollution des eaux par les engrais et les pesticides, 1981
- [06] - ROUSSEL - UCLAF, DECIS Information Technique, 1988
- [07] - A.I. ABDEL - ALL et coll, 1989, Alex Sci - Exch, Vol 10, n° 3, pp 487 - 504
- [08] - R.BOUSSAHEL ,I.DJOUAMAA, A.BOUCHNAFA, K.MOUSSAOUI et M.SAOUTHY, Rev. Alg .Santé. Mil., 1993, XXII, N°4, pp 65-69
- [09] - A. VENANT et coll, Food Additives and Contaminants, 1990, Vol 7, n° 1, pp 117 -123
- [10] - R.BOUSSAHEL, K.MOUSSAOUI et M.SAOUTHY, Journée Mondiale de l'Environnement, HCA, Alger, 1996
- [11] - R.BOUSSAHEL , A.AISSAT, M.AIT ADDI, K.MOUSSAOUI et M.SAOUTHY, Journée Mondiale de l'Environnement, HCA, Alger, 1994
- [12] - R.BOUSSAHEL, A.BRAHIMI, K.MOUSSAOUI et M.SAOUTHY, Journée Mondiale de l'Environnement, HCA, Alger, 1996
- [13] - P. BOTTOMLEY et P.G. BAKER, ANALYST, 1982, Vol 107,pp 206-212
- [14] - F.A.O/O.M.S, Codex Alimentarius, 1975
- [15] - CRAMER, Pflanzenschutz Nachrichten Bayer, 1975, 28, 2, pp 218 - 231
- [16] - O.N.U., « Agriculture Horizon 2000 », 20ème Session, ROME ,1986
- [17] - O.M.S., Critères d'Hygiène de l'Environnement Principes et Méthodes d'Evaluation de la Toxicité des Produits Chimiques,1979,6, p 286
- [18] - N.A.S., Drinking Water and Health, 1977, p 939
- [19] - E.P.A., Preliminary assessment of suspected carcinogens in drinking water, Report to congress, 1975, p 52
- [20] - O.M.S.,Classification Recommandée des Pesticides en Fonction des Dangers

qu'ils présentent, Chroniques O.M.S., 1975, 29, pp 435 - 439

- [21] - L. MOUILLET et F.M. LUQUET, Le Contrôle dans les Industries Agro-Alimentaires, Volume 4, Librairie LAVOISIER - PARIS, 1986
- [22] - Ministère de la Qualité de la Vie - FRANCE , Monographie Scientifique sur la Pollution par les composés Organochlorés , 1974
- [23] - J. GOURSAUD, F.H. LUQUET, J. CASALIS, Revu -Lait, 1972, 202, pp 779 - 785
- [24] - U.S., Departement of Health, Education, and wel food and Drug Administration - Pesticide, Analytical Manual (Methods Which detect multiple résidues), Vol 1et 2 , 1968 à 1971
- [25] - L. MOUILLET, J. GOURSAUD et F.H. LUQUET, Alimentation et la Vie, 1974 , n° 4, pp 228 - 235
- [26] - R. MESTRES, J. TOURTE et M. CAMPO, Ann . Fals. Exp. Chim, 1972, pp 45 - 56
- [27] - A. COLAS, Chimie et Industrie, 1971, Vol 104, n° 14
- [28] - F. JAMES, LAWRENCE, D. TURTON., J of chromatog, 1978, 159, pp 207 - 226
- [29] - J. E .BONELLI , Computer - Controlled G.C. - M.S. for the analysis of polychlonated Biphenyl reprint of Américan Laboratory, 1971
- [30] - ROUSSEL - UCLAF , Bulletin Technique du DECIS , , 1988
- [31] - FISCHER, CHAMBON, Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, A.N.P.P., 1987 ,Tome II, pp 137 - 148
- [32] - L'HOTELLIER V., British Crop, Protection Conférence OnPests and Discases, 1986, P.C. 22 , pp 1909 - 1116
- [33] - ROUSSEL - UCLAF, «DECIS : Dossier Environnement» , 1989
- [34] - RUZO et coll, J.Agric.Food.Chem., 1977, Vol 25, N° 6 ,pp 1385 - 1394
- [35] - ZHANO et coll, J.Agric.Food .Chem. ,1984, Vol 32, N°32, pp 1207-1211
- [36] - SHONO et coll, J.Agric.Food .Chem. , 1979, Vol 27, pp 311-325
- [37] - SODERLUND et coll, Pest Biochem and Physiol, 1979, Vol 7, pp 114 -128
- [38] - RUZO et COLL, J. Agric.Food.Chem., 1978 ,Vol 26, n° 4, pp 918 - 925
- [39] - RUZO et COLL, Pest Biochem and Physiol, , 1981, Vol 15, pp 137-142
- [40] - RUZO et COLL, J. Agric.Food .Chem, 1979, Vol 27, pp 552-575
- [41] - SALEH et COLL, J. Agric. Food. Chem, 1986 ,Vol 34, pp 895 - 898

- [42] - D.E. JONCKHERE et coll, Pest Sci, 1982 ,13, pp 351 - 356
- [43] - G. MESTRES , Phytoma - Défense des Cultures, 1985, p 15
- [44] - F.A.O/O.M.S, CODEX ALIMENTARUS , 1989 ,04, p 135
- [45] - M. HASCOET et L. ANDRE , Phytopharmacie , 1978, 27, pp 85 - 98
- [46] - M. PANSU et coll, Analysis, 1981, 9 (1 - 2), pp 55 - 59
- [47] - TILLIER et DEVAUX , 1980 , ROUSSEL - UCLAF, Document non Publié
- [48] - M.H. AKHTAR, J of Chromatog, 1982 , 246, pp 81 - 87
- [49] - E. BOLYGO et F. ZAKAR, J of A.O.A.C., 1983, Vol 66 n° 4 , pp 1013-1017
- [50] - R. MESTRES et coll , Trav Soc Pharm Montpellier, 1978, 38, pp 183 - 192
- [51] - PARMPAL SINCH et coll, Phytoparasitica, 1990 ,18 (2), pp 153 - 158
- [52] - ROUSSEL - UCLAF , Bulletin Technique du DECIS , 1977
- [53] - MEINARD et coll, J of Chromatog , 1979, 176, pp 140 - 144
- [54] - KHAN et coll, J. Agric.Food.Chem., 1981, Vol 32, pp 1141 - 1144
- [55] - BARTOS , 1976 , Rapport Interne du C.R. ROUSSEL - UCLAF
- [56] - MOUROT et coll , J of Chromatog , , 1979,173, pp 412 - 414
- [57] - R. HADDAD et coll , J of Chromatog , ,1989,461, pp 337 - 346
- [58] - R.C. BLINN et J.E. BOYD, Journal of A.O.A.C, 1964 ,Vol 47, n° 6, pp 1106 - 1111
- [59] - W.N. ALDRIGE, Analyst, 1944,69, p 262
- [60] - R. ROSSET, M. CAUDE, A. JAKDY, Manuel Pratique de Chromatographie en Phase Liquide, 2ème Edition, MASSON , PARIS ,1990
- [61] - D.J. RUNSER, Maintaining and trouble shooting, HPLC systems, a user's guide, JOHN WILEY AND SONS, NEW-YORK , 1981
- [62] - M.VAYSSE et coll, ZWEIG, 1984, XIII, pp 53-68
- [63] - P. DEBATY, La Statistique Paramétrique, 1ère Edition, Editions de l'Enseignement B.L., BRUXELLE 5 , 1967
- [64] - J.MOUNIE, Ann Fals Exp Chim, 1985,78, N°839, pp 263 -270
- [65] - PYE - UNICAM, Users Manual of P.U. 4.500 Chromatography ,1981
- [66] - H. HEMETS BERGER et coll, Chromatographia, 1976,9, p 303